

**Hazai lápi kosborfajok aktív védelmét megalapozó
élőhelyi és laboratóriumi vizsgálatok, különös
tekintettel a hagymaburok (*Liparis loeselii*) és a
tőzegorchidea (*Hammarbya paludosa*) fajokra**

Illyés Zoltán

Doktori értekezés

Biológia Doktori Iskola (Dr. Erdei Anna)

Kísérletes Növénybiológiai Doktori Program (Dr. Szigeti Zoltán)

Témavezető:

Dr. Bratek Zoltán PhD

egyetemi adjunktus

Eötvös Loránd Tudományegyetem

Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

Budapest

2011

Tartalomjegyzék

Bevezetés	4
Irodalmi áttekintés.....	6
Hazai vizes élőhelyeink orchidea fajai	6
A hagymaburok általános bemutatása	7
A vizes élőhelyek egyéb orchideafajai.....	12
Az orchidea-típusú mikorrhiza	15
Az orchidea-típusú mikorrhiza általános bemutatása	15
Az orchidea-típusú mikorrhizát kialakító gombacsoportok.....	17
Az orchidea-típusú mikorrhiza faj- és élőhely-specifitása	20
Az úszólápi élőhelyek gombavilágának kutatása.....	21
Célkitűzések.....	23
Anyagok és módszerek	24
Az <i>in situ</i> és <i>ex situ</i> csíráztatás módszere.....	24
A csíráztatásba bevont orchideafajok és -élőhelyek	24
Élőhelyi, <i>in situ</i> csíráztatás	24
Botanikus kerti, <i>ex situ</i> csíráztatás	29
Az orchidea-típusú mikorrhiza-vizsgálatok módszerei.....	30
A mikorrhiza-vizsgálatba bevont orchideafajok és élőhelyek bemutatása	30
Gombaizolálás módszerei.....	34
Molekuláris taxonómiai vizsgálatok lépései	34
Eredmények.....	39
Az <i>in situ</i> és <i>ex situ</i> csíráztatások eredményei	39
Az <i>in situ</i> csíráztatások eredményei	39
Az <i>ex situ</i> csíráztatás eredményei	43
Az orchidea-típusú mikorrhiza-vizsgálatok eredményei	44
Eredmények értékelése.....	49
Lápi orchidea fajok életmenet-vizsgálat eredményeinek értékelése	49
A hagymaburok <i>in situ</i> csíráztatás eredményeinek értékelés	49
A hagymaburok <i>ex situ</i> csíráztatás eredményeinek értékelés	51
A hagymaburok életmenete a csíráztatási kísérletek tükrében	51
A tőzegorchidea mikorrhiza-partnere és élőhelyi csíráztatásának tapasztalatai ...	53
A vizes élőhelyek orchidea-típusú mikorrhizát kialakító gombáinak diverzitása.....	54
Az eredmények összefoglalása, következtetések.....	61
Összefoglalás.....	63
Summary	64
Publikációs jegyzék.....	66
Köszönetnyilvánítás	77
Irodalomjegyzék	78

A dolgozatban fontosabb szerepet kapó növény és gomba taxonok pontos megnevezése és szinonimáik (szinonima jelölése: =).

Növény taxonok:

Dactylorhiza incarnata (L.) Soó

Epipactis palustris (L.) Crantz

Gymnadenia conopsea (L.) R. Br.

Hammarbya paludosa (L.) O. Kuntze

Liparis loeselii (L.) Rich.

Ophrys sphegodes Mill.

Ophrys scolopax Cav. agg. = *Ophrys oestrifera* F. A. Marschall von Bieberstein

Orchis militaris L.

Orchis laxiflora Lam. ssp. *palustris* (Jacq.) A. et G. = *Anacamptis palustris* ssp. *palustris* (Jacq.) Bateman, Pridgeon et Chase = *Orchis palustris* Jacq.

Gomba taxonok:

Epulorhiza repens (Bernard) Moore 1987

Rhizoctonia repens Bernard (1909)

Tulasnella calospora (Boudier) Jouel 1897

Bevezetés

Van virága a kelő napnak és tikkasztó délnek és az éj sötétjének.

*Van virága tavasznak és ősznek, van a víznek, pusztának,
erdőnek és sziklafalnak.*

Van pár órás virágélet és van hónapokig pompázó.

*Mindegy, hogy hol, hogyan és meddig, csak teljes legyen az élet,
töltse be rendeltetését, és ne keresse jutalmát.*

Erről beszélnek az oktan-okos virágtestvérek.

(Csapody Vera)

Az orchideák szépségük és sok különleges tulajdonságuk mellett igen ritkák és sok veszélyeztetett fajt találunk köztük. A növényvilágban a legkisebb magvakat közöttük találhatjuk, és annak ellenére ritkák, hogy apró magvaik igen nagy számban, sok ezres vagy akár tízezres nagyságrendben termelődhetnek termésenként. Az igen apró, tartaléktápanyagot nem tartalmazó magok önmagukban képtelenek csírázni, így már a növény fejlődésének igen korai szakaszában egy másik szervezet, a megfelelő gombafaj segítségére szorulnak. A két szervezet között kialakuló szimbiózis nélkülözhetetlen a fejlődő orchidea számára.

Szinte minden élőhelytípusban találhatók orchideafajok, de a lápoknak mégis kiemelkedő szerepük van az orchideafajok tekintetében. Sok orchideafaj kötődik ugyanis lápokhoz és egyéb vizes élőhelyekhez, több közülük tömeges lehet egy-egy természetközeli élőhelyfolton, viszont a lápok, mocsári élőhelyek igen sebezhetőek. Egykori lápjaink 97%-át elvesztettük, nagyrészt tudatos élőhely-átalakítás révén, a mezőgazdasági művelés és tűzgebányászat érdekében lecsapolásokkal, felszántással és tűzegkitermeléssel. A még megmaradt vizes élőhelyek pedig általában medence jellegük miatt veszélyeztetettek továbbra is, hiszen a nagy mennyiségben alkalmazott vegyszerek, műtrágyák gyűjtőhelyeivé válhatnak, ami elgyomosodásukhoz, növényfajaikban való elszegényedésükhöz vezet. A lápok drasztikus fogyatkozásuk és degradálódásuk miatt mára élőhelyi szinten is törvényi védelemben részesülnek minden rajtuk élő szervezettel együtt.

A lápi élőhelyek orchideái között a még tömeges fajok mellett vannak igen ritka, kiemelt figyelmet érdemlő taxonok. A hagymaburok (*Liparis loeselii*) és a tűzegorchidea (*Hammarbya paludosa*) a legritkább orchideáink közé tartoznak. Róluk szerzett ismereteink

azonban nem állhatnak meg pusztán a növényfajok élőhelyi és fenológiai leírásainál, hiszen a természetben e két faj, rokonaikhoz hasonlóan, kizárólag gombával együtt fordul elő. A szimbionta gombák rendszertani besorolása mellett ismernünk kell azok elterjedését is ahhoz, hogy hatékonyan védhessük a gazdaszervezeteiket, az orchideákat. Aktív fajvédelmük során tehát a növény és gomba együttes ismerete, védelme és megőrzése hozhat csak eredményt.

Munkám során a hagymaburok orchidea életciklusának még fel nem tárt, földalatti szakaszának vizsgálatát tűztem ki célul, melynek során a csírázás körülményeit vizsgáltam. A szimbionta gomba kimutatása és csírázásra gyakorolt hatása mellett a hagymaburok hazai speciális élőhelyének, az *úszóláp* orchidea-szimbionta diverzitását vizsgáltam, összehasonlítva más vizes és száraz élőhelyekkel. Elsőként mutattam ki összefüggést a különböző vizes élőhelyek és a rajtuk élő orchidea-szimbionta gombaközösségek összetétele között. A tőzegorchidea mikorrhiza-partnerének vizsgálata révén pedig elsőként sikerült taxonómiaiilag tisztázni az igen ritka orchideafaj szimbionta gomba partnerét.

Irodalmi áttekintés

Hazai vizes élőhelyeink orchideafajai

Az Orchidaceae család közismerten rendkívül fajgazdag, hozzávetőleg 750-900 nemzetség és 25000 - 35000 faj alkotja (Nash és mtsi 2005). Túlnyomó többségük (90%) trópusokon él (Ježek 2005), ahova a család kevésbé ismert evolúciójának kezdetét is teszik. A legősibb biztos lelet egy 10-15 millió éves orchidea pollencsomó egy ősi méh hátára tapadva, melynek vizsgálatával a növénycsalád 76-84 millió évvel ezelőtti megjelenését feltételezik (Ramírez és mtsi 2007). Annyi bizonyos, hogy későn kialakult növénycsaládról van szó. Ma is tartó gyors evolúciójukra utal a család sok tagjának nagy genetikai variabilitása, és a nemzetségek közti genetikai határok átjárhatósága, mely révén akár nemzetségek közötti tovább szaporodni képes hibridek jöhetnek, ill. hozhatók létre (Ježek 2005, Molnár 2006). Életmódjukat tekintve *epifita*, azaz más növényeken, főleg fákon élő; *litoftita*, vagyis sziklafelszíneken élő és *terresztris*, talajlakó fajaik is megtalálhatók. A mérsékelt égövön kizárólag terresztris fajok fordulnak elő. Hazánkban jelenleg 62 orchideafaj él (Molnár 2003, Molnár és mtsi 2011). Természetközeli fás és fátlan, száraz és nedves élőhelytípusaink mindegyikén előfordulhatnak orchidea fajok. Széles élőhelyspektrummal rendelkező, társulásközömbös fajok és élőhelyspecialisták egyaránt találhatók közöttük. Általánosan elmondható, hogy növekedésükhöz a füvek és sások dominanciájának túlzott felerősödése nem kedvez, így az ezeket korlátozó élőhelyi adottságok (árnyékolás, kevés tápanyag) és folyamatok (legelés, kaszálás) kedveznek az orchideák megtelepedésének (Molnár és mtsi 1995). A tápanyagok, és legfőként a nitrogén feldúsulása leginkább a pangó vizes élőhelyeket sújtja, hiszen ezekre a mélyen fekvő élőhelyekre pont a feljük áramló víz gyűjti össze az emberi tevékenység által eutrofizációt okozó anyagokat (Sulyok és Ilonczai 2002). Megőrzésük érdekében természetvédelmi szempontból is kiemelt szerepet kaptak, ugyanis a természet védelméről szóló 1996. évi LIII. törvény hatályba lépése óta *ex lege* – azaz a törvény erejénél fogva – védett természeti területnek minősül minden láp és szikes tó. Az élőhelyek védelme mellett törvényi védelemben részesül sok rajtuk élő növényfaj is. Hazánkban minden orchidea védett, így a lápokon élők is, melyek közt találhatók fokozottan védett kosborok is, így a lápokon is élő bangók (*Ophrys* spp.) és két lápi specialista a hagymaburok (*Liparis loeselii*) és a tőzegorchidea (*Hammarbya paludosa*).

A hagymaburok általános bemutatása

A hagymaburok morfológiai leírása

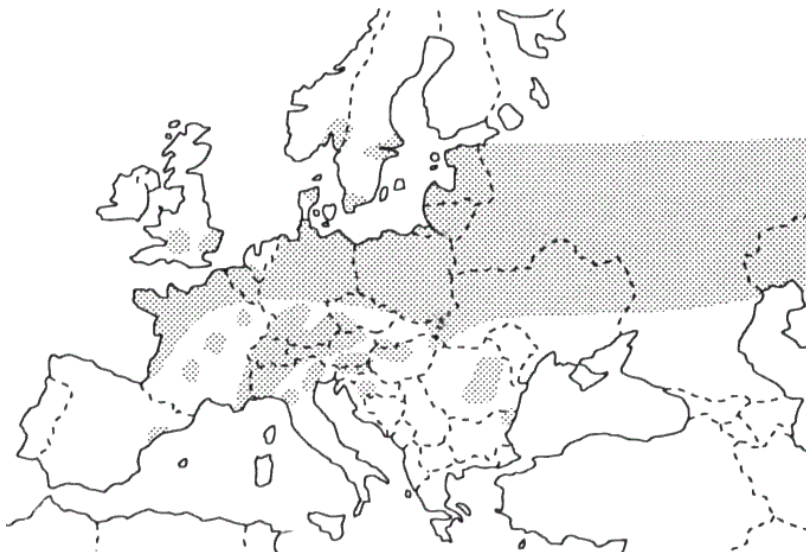
Gyöktörzzsel rendelkező álgumós geofiton, melynek felső végén egy idősebb és egy fiatalabb, hagymaszerű buroklevelekkel borított álgumó található. A fiatalabb álgumó kb. 1-1,5 cm hosszú. Általában két, átellenesen álló, széles lándzsás, sárgászöld, zsírfényű, felálló lomblevele van. A nagyobb levél 2-13 cm hosszú és 0,7-3 cm széles, míg a kisebb általában ennek kétharmada. A szár kopasz, levéltelen, felső részén 3-5 szögletű. A virágzat 2-7 cm hosszú, kevés, 1-10 (-17) virágú, amelyek sárgásak, kevésbé feltűnőek. A murvalevelek világoszöldek, 1,5-2,5 mm hosszúak és szélesek, sokkal rövidebbek a magháznál. A magház zöld, 5-9 mm hosszú, hengeres, 180°-ban csavarodott. A külső lepek 7-10 mm hosszúak, 1,4-2 mm szélesek, lándzsás-szálalakúak, tompák, begöngyöltek. A belső lepek kisebbek, szálalakúak, 5-8 mm hosszúak és 0,5-0,7 mm szélesek. A mézajak meggyömbült, 7-10 mm hosszú és 4-5 mm széles. A toktermés felálló, 4,5-5,5 mm széles, 12-13 mm hosszú - amelyből a kocsány 3,5-4 mm-t tesz ki (Molnár 1999b, Illyés és mtsi 2006, Illyés és Molnár 2011) (1. ábra).



1. ábra: A hagymaburok habitusát és egy virágát ábrázoló rajz (szerző).

A hagymaburok elterjedése és hazai élőhelyei

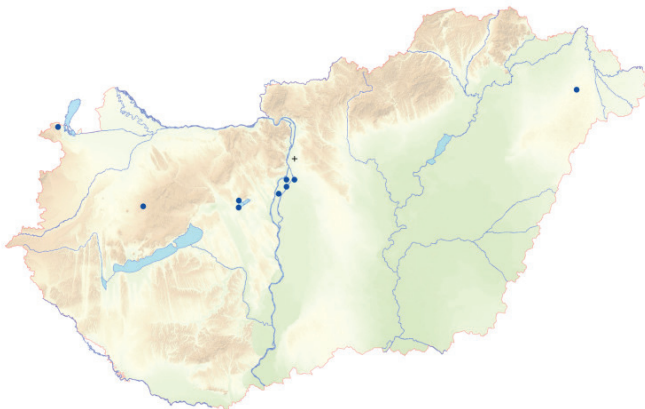
Cirkumboreális (euroszibériai–észak-amerikai) elterjedésű faj. Elterjedésének határai Európában: északon Dél-Angliától Dél-Skandinávián és a Baltikumon keresztül Szibériáig, délen Kelet-Spanyolországtól Dél-Franciaországon, Észak-Olaszországon át Bulgáriáig található meg (Hultén és Fries 1986). Európában a tengerszinttől 1100 méteres magasságig fordul elő (Künkele és Baumann 1998) (2. ábra).



2. ábra: A hagymaburok európai elterjedése (Molnár és mtsi 1995)

Magyarországon igen ritka, jelenleg ismert legnagyobb hazai állománya a Velencei-tavon él (Balogh 1969, Balogh és mtsi 2002, Illyés 2006) néhány ezres tőszámmal. A Ráckevei- (Soroksári-) Duna-ágon Dunaharaszti térségében (Reszler 1997, Illyés 2006), Szigetsép mellett (Illyés és mtsi 2006, Illyés 2006) valamint Szigetszentmiklós (Illyés 2007) környékén található meg százas nagyságrendű populációi. Sopron mellett a Kistómalomi

lápéren tízes nagyságrendű állománya került elő időről időre (Frank és Király 1997, Illyés és mtsi 2006). 2009-ben előkerült egy példánya a devecseri Széki-erdőnek egy lápján is (Vasuta 2009). A nyírségi Vaja település víztározójának egyik úszólápján 1990-es években fellelhető kis egyedszámú populációja (Molnár és mtsi 1994, Takács 1999) mára eltűnt, jelenléte bizonytalanná vált (Illyés 2006). A kevésbé feltűnő orchidea Magyarországon egykor a mainál jóval elterjedtebb volt, hiszen még a budapesti Városliget mocsaras helyein is nőtt (Sadler 1840, Borbás 1879), azonban a XIX. század végére kihalt ezen élőhelyéről (Simonkai 1904) (3. ábra).



3. ábra: A hagymaburok hazai elterjedése (Illyés és Molnár 2011)

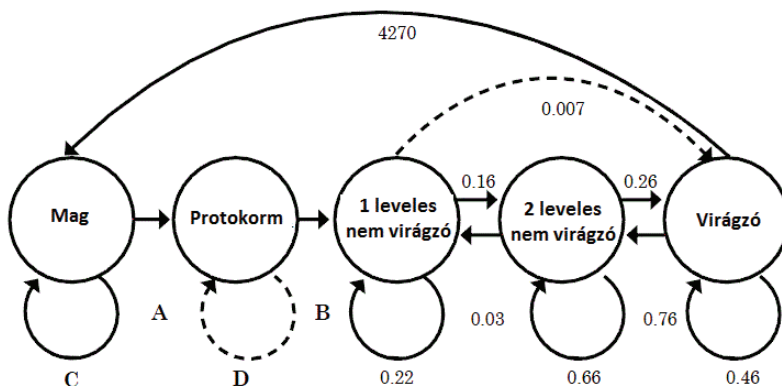
Magyarországon fokozottan védett, természetvédelmi értéke példányonként 100 000 Ft (23/2005. (VIII. 31.) KvVM r.).

Míg a hagymaburok Észak–Amerikában különböző típusú fás és fátlan vizes élőhelyeken él, alkalmilag pedig ezeknél szárazabb, magasabb fekvésű területekről is kimutatható (McMaster 2001, Rolfmeier 2007), addig Európa nagy részén ennél jóval szűkebb élőhelyspektrumon található meg. A Magyarországtól nyugatabbra fekvő kiegyenlítettebb csapadékelátottságú területeken alacsony fekvésű, mészen gazdag síklápokon és átmeneti lápokon él (Keller és mtsi 1972, Davies és mtsi 1988), hazánkban pedig az álló vagy lassan folyó vizeinken kialakult úszólápi élőhelyek (Balogh és mtsi 1980) biztosítják a hagymaburok számára a kiegyenlített vízellátottságot. Rossz kompetíció

képessége miatt a hosszú ideje tűzegesedő, így tápanyagokban egyre szegényedő, már szabad tűzegfelszínnel is rendelkező élőhelyeken él, és hosszútávon csak akkor maradhat meg, ha az idővel megjelenő tűzegmohák nem alakítják át az élőhelyet dagadóláppá. Ezek a keskenylevelű gyékényes-tűzegpáfrányos ingólápok (*Thelypteridi-Typhetum angustifoliae* Borhidi 1996) tápanyagokban szegény, disztróf vizekben jelennek meg és úgy jönnek létre, hogy a gyékény és nád rizómái a víz felszínén összefonódva és a detritusz-anyagot összegyűjtve tűzeges talajú ingóláp-szigeteket hoznak létre (Borhidi 1997)

A hagymaburok életmenete

A hagymaburok életciklusának már több, főleg a föld feletti, leveles és virágzó hajtást hozó szakaszáról vannak ismereteink (Ziegenspeck 1936, Mrkvicka 1990, Jones 1998, Wheeler és mtsi 1998, McMaster 2001, Vakhrameeva és mtsi 2008). A fiatal növények hajtásai a csírázástól számítva 1-5 év után jelennek meg a talajfelszín felett (Ziegenspeck 1936, Mrkvicka 1990). A csírázás után 2-5 év elteltével virágoznak először (Wheeler és mtsi 1998) és a tövek élettartamát 8 évre becslik (Jones 1998, Vakhrameeva és mtsi 2008). A tokonkénti magszám öt tok vizsgálata alapján 4270 db (min. 1601 db – max. 11748 db), és a terméskötést 51% és 77,3% közti értéknek kapták (McMaster 2001). A magas terméskötési arányok a növény autogámiájával magyarázhatók (Kirchner 1922), melyben ráadásul a növényvilágban ritka módon az eső közvetítésével történik a beporzás (Catling 1980). Vagyis a magok igen nagy mennyiségben termelődnek és életképességük is magas, mintegy 80 % (McMaster 2001). Mesterséges táptalajokon a magok csírázása 25-40% (Henrich és mtsi 1981, Illyés és mtsi 2005), vagy akár az életképesség arányát is elérő lehet (Illyés 2003). A természetben történő csírázás arányáról még nincs információnk (Rolfmeier 2007), de a csírázó magokból fejlődő fiatal hajtások egyedek mortalitási arányát már vizsgálták, és igen magasnak, 80 %-ot meghaladó értéknek adódott (Wheeler és mtsi 1998). A faj életciklusának több részletét, így a magok elfekvését (magbank) és a hajtásos tövek orchideáknál általánosan megfigyelt lappangását még nem vizsgálták, bár Keller és mtsi (1972) szerint az általában sporadikus megjelenésű hagymaburok, szárazabb években lappanghat. Lappangására utal Schlechter (1928) megállapítása is, aki szerint a hagymaburok nedvesebb években számosabban, szárazabb években szórványosabban jelenik meg. A hagymaburok életciklusának ismert és még nem vizsgált fázisait az 4. ábrán szemléltetem.



4. ábra: A hagymaburok (*Liparis loeselii*) életciklus modellje (Rolfmeier 2007 alapján). A vitalitási arányok Wheeler és mtsi (1998), az átlagos tokonkénti magmennyiség adat pedig McMaster (2001) adatai. Az A-D arányok nem ismertek. A szaggatott vonalak még nem bizonyított átmeneteket jelölnek.

Az orchideák könnyű magjai szélllel terjednek, így messzire is kerülhetnek az anyanövénytől, de Chung és mtsi (2004) kimutatták, hogy az orchideamagok nagy része mégis az anyanövény közelében marad. A magok a víz felszínén úsznak, „vízállók”, de a hagymaburok esetében a vízzel való magterjedést még nem mutatták ki (Rasmussen 1995). A hagymaburok gyökeréből már korán kimutatták a mikorrhiza-gomba jelenlétét (Ziegenspeck 1936), és gombapartnerét is azonosították a faj egy amerikai populációjában, az anamorf *Rhizoctonia repens* néven (Curtis 1939), mely azonos az ugyancsak anamorf *Epulorhiza* nemzetség *E. repens* fájával, és melynek teleomorf elnevezése a *Tulasnella* nemzetséghez tartozó *T. calospora*. Hazai és csehországi hagymaburok populációk virágzó egyedeinek gyökeréből ugyancsak *Epulorhiza* fajt izoláltunk (Illyés 2003, Illyés és mtsi 2005). Franciaországi hagymaburok egyedből szintén *Tulasnella* faj került elő (Valentin és mtsi 2010). A növény és gombapartneré közötti specifikitást vizsgáló egyetlen fellelt munka nem szolgáltatott eredményt, ugyanis a kísérletben elvetett hagymaburok magok sem a saját gombapartner, sem pedig más orchideáról származó gombák jelenlétében nem csíráztak (Curtis 1939).

Hazai vizes élőhelyeink egyéb orchideafajai

A tőzegorchidea

A tőzegorchidea (*Hammarbya paludosa*) boreális, cirkumpoláris elterjedésű faj. Bár Nyugat- és Észak-Európa szinte minden országában megtalálható, de mindenhol ritka és gyakorisága dél felé tovább csökken (Davies és mtsi 1988). Hazánkban a fajnak egyetlen előfordulása ismert a Beregi-síkon, a gelénesi Bábtaván (Kröel-Dulay és mtsi 1995).

Magyarországon fokozottan védett, természetvédelmi értéke példányonként 100 000 Ft (23/2005. (VIII. 31.) KvVM r.).

4-25 cm magas, karcsú, kevésbé feltűnő növény. A szár kopasz, 3-5 szögletű és gyakran csak kisebb része emelkedik a tőzegmoha fölé. 1-2, az álgumót védő burokká módosult tőlevelet, és 2-4 ovális vagy lándzsás, 8-30 mm hosszú és 5-11 mm széles levelet hordoz, melyek közül a legfelső lomblevél a legnagyobb méretű. Levelei színén, a csúcsi rész szélén az európai orchideák között egyedülálló módon vegetatív szaporító képleteket, ún. sarjgagymácskákat növeszt, melyekből a tőzegmohapárnába hullva néhány év alatt virágzó egyed fejlődhet (Davies és mtsi 1988). A 10-35 tagú karcsú virágzat füzért alkot. A sárgászöld, sarkantyú nélküli virágok igen aprók, csak néhány milliméteresek. A magház teljesen, 360 fokban megcsavarodik, így a háromszög alakú mézajak felfelé áll. Virágzása július és augusztus (szeptember) közé esik (Davies és mtsi 1988, Kröel-Dulay és mtsi 1995, Molnár 1999a, Tutin és mtsi 1980).

Mikorrhizáltságát kimutatták (Ziegenspeck 1936), de mikorrhiza-képző gombapartnerét a fellelhető szakirodalmak és összefoglaló munkák tanúsága szerint korábban nem azonosították (összefoglalók: Rasmussen 2002, Dearnaley 2007).

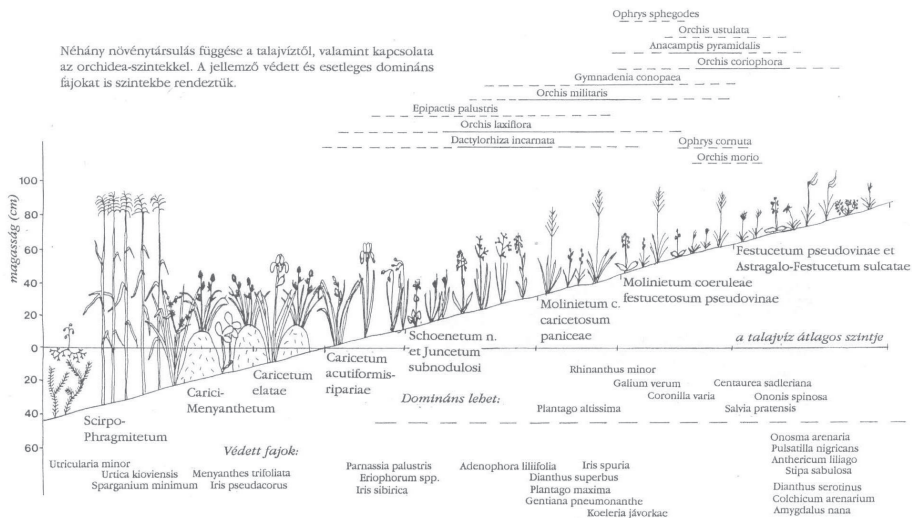
Átmeneti és dagadólápok növénye, leggyakrabban tőzegmohapárnákban él (Schulze 1894, Davies és mtsi 1988). A hazai egyedek a Bábtaván cönológiai szempontból egy átmeneti láp típusú foltban élnek (Kröel-Dulay és mtsi 1995).

Hazai vizes élőhelyeink gyakoribb orchidea fajai

A lápok jó vízellátottságú, általában pangó vizes élőhelyek. Tápanyagban szegény vizük általában oxigénben szegény. A kiszáradó lápréteket, és egyéb időszakosan száraz láptípusokat kivéve tőzeg-felhalmozódás jellemzi őket (Fekete és Varga 2003). Lápréteink jellemző orchideafajai a hússzínű és széleslevelű ujjasbor (*Dactylorhiza incarnata*, D.

majalis), a mocsári nőszőfű (*Epipactis palustris*), a szúnyoglábú bibircsvirág (*Gymnadenia conopsea*), a vitézkosbor (*Orchis militaris*) (Molnár és mtsi 1995). A mocsári nőszőfű (*E. palustris*) inkább mészkedvelő, síkvidéki és hegyi lápréteken, fűzlápokban, magassásos társulásokban, nádasok szélein fordul elő (Sulyok 1999). Kisebb egyedsűrűséggel, de előkerült a Velencei-tó úszólápjairól is (Illyés 2006), de az előbbieknél jóval szárazabb, másodlagos élőhelyekről is, például felhagyott szőlőkből (Barina 2000, 2006), így az említett fajok közül nedvességigény szempontjából ez a faj a legtágabb tűrésű. A mocsári ujjaskosbor (*D. incarnata*), bár igen elterjedt faj, de a vizes élőhelyekhez való kötődése szorosabb az előbb említett orchideáknál. Láprétek, mocsárrétek, magassásos társulások, láperdők és magaskórósok növénye (Vojtkó 1999a). A mocsári kosbor (*Orchis laxiflora* ssp. *palustris*) a vizes élőhelyeket tekintve igen széles élőhelyspektrumon megtalálható, az előbb említett fajok vizes élőhelyein túl, szikes és sós réteken is előfordul, valamint az előbbieknél jóval gyakoribb nádasokban, nádasodó élőhelyeken (Vojtkó 1999h). A szúnyoglábú bibircsvirág (*G. conopsea*) és a vitézkosbor (*O. militaris*) a mocsári nőszőfűhöz hasonlóan tág élőhelyspektrummal jellemezhetők, de a szárazabb típusok felé tolódva. A láprétektől a karsztbokoreredőkhöz tart az élőhelyspektrumuk (Vojtkó 1999b), annyi különbséggel, hogy a vitézkosbor (*O. militaris*) gyakran telepedik meg bolygatott, másodlagos termőhelyeken, felhagyott homokbányákban, útbévágásokban, kubikgödörökben, akár vasúti töltések oldalában is (Molnár 1999c). Bangó (*Ophrys*) fajaink az előbb említett orchideáknál jóval ritkábbak, inkább mészkedvelők és a láprétektől a karsztbokoreredőkhöz megtalálhatók (Vojtkó 1999c-g). A pókbangóra (*O. sphegodes*) és a szarvasbangóra (*O. oestrifera*) jellemző a nedves (mocsárrétek, nedves rétek) és szárazabb élőhelyek (homoki rétek) kontaktzónájában való megjelenés (Vojtkó 1999f-g).

Seregélyes és Csomós (1990) a turján vidéken készített élőhely diagramján elhelyezte az ott található orchideafajokat az egyes társulásokban való megjelenésük szerint (5. ábra). A legnedvesebb élőhelyeken a *Dactylorhiza incarnata*, az *Orchis laxiflora* ssp. *palustris* és az *Epipactis palustris* található, melyek az *Epipactis palustris* kivételével az élőhelyspektrum szárazabb részein is előfordulnak az ott élő *Gymnadenia conopsea* és *Orchis militaris* egyedeivel. Az élőhelyi átfedés már kisebb az ott élő bangó egyéb orchidea fajokkal (*O. coriophora*, *O. ustulata*, *O. morio*, *Anacamptis pyramidalis*).



5. ábra: Az Ócsa-Dabasi turjánvidék néhány jellemző növénytársulásának szelvénye (Seregélyes és Csomós 1990)

Az orchidea-típusú mikorrhiza

Az orchidea-típusú mikorrhiza általános bemutatása

Az orchideák magja igen apró (0,3–14 μg tömegű), porszerű. Az új egyedet létrehozó embrió fejletlen (differenciálatlan), és nincs körülötte a kezdeti fejlődéséhez szükséges tartalék tápanyag (Burgeff 1936). A legtöbb faj esetében a növényvilágban általános kettős megtermékenyítés nem zajlik le: a központi sejt nem termékenyül meg, így táplálósövet (endospermium) sem alakul ki (Andronova 1997). Mivel ekkor még a kis növény nem képes a fotoszintézisre és sziklevel formájában tápanyag sem áll a rendelkezésére, így nem tud fejlődni indulni külső segítség nélkül. A talajba kerülő mag vízfelvétele után az embrió csak néhány osztódáson tud átesni, kialakítva ezzel egy kezdetleges és differenciálatlan csíranövényt, az úgynevezett protokormot. Ez a gömbszerű képlet sok esetben alig nagyobb a magnál, és kis nyúlványokat (bőrszöveti szőröket) növeszt környezetébe, majd a növekedése leáll. A fejlődése csak abban az esetben indul meg, ha a megfelelő gomba rátalál (Rasmussen 1995). Arról még megoszlik a kutatók véleménye, hogy okoz-e különbséget a gomba behatolásának helye a kapcsolat további alakulásában. Különbség lehet ugyanis a kis szőrszerű nyúlványon (rizoid), illetve a csíranövény felszínét borító egyéb sejteken keresztül történő behatolás helye és a bekövetkező szimbionta együttműködés vagy a növény elhalását eredményező parazita kapcsolat kialakulása között. Egyes esetekben a rizoidokon keresztül történő gomba-kolonizáció nagyobb eséllyel vezet szimbiózisra (Hadley és Williamson 1971, Rasmussen és mtsi 1990), míg vannak orchidea fajok, ahol az embrió alsó részének kidudorodásán (szuszpenzor) keresztül történik a sikeres kolonizáció (Williamson és Hadley 1970, Clements 1988, Peterson és Currah 1990).

Az orchidea csíranövény szövetei közé növe gomba behatol a sejt belsejébe maga előtt tolja a növényi sejt plazmamembránját. A külső sejtfalon belülre került hifa többszörösén elágazik és feltekeredik, létrehozva az orchidea-típusú mikorrhiza jellegzetes képletét a pelotont. A gomba nem nyomást gyakorolva töri át a sejtfalat, hanem lokálisan lebontja (hidrolizálja) a sejtfal anyagát, és kissé elvékonyodva halad át rajta (Peterson és Currah 1990). A külső sejtfalon belüli peloton nagy felületet biztosít a tápanyagok átadására. Ahogyan a gomba sejtről sejtire terjed, a csíranövény alsó (bazális) régiójának nagy részét kolonizálhatja. Egy sejten belül nem marad meg sokáig a gomba. Részletes vizsgálatok alapján a peloton életideje átlagosan egy nap (Hadley és Williamson 1971). Miután a gomba hifái ellaposodnak, az egész gombolyag egyre kisebb csomóvá zsugorodik és a növényi sejt sejtfalanyagokkal

(kallóz, pektin, cellulóz) veszi körül (Peterson és Currah 1990). Az egész folyamat alatt és után is élő és aktív növényi sejt később újra kolonizálható a gomba által a szomszédos sejtek felől (Burgeff 1936). Ebből is kitűnik, hogy a gomba kolonizációja az orchideagyökerekben térben és időben dinamikus folyamat.

A gomba által szállított tápanyagok segítségével a csíranövény igen gyors növekedéssel, fajtól függő idő alatt zöld hajtást növeszt, fotoszintetizáló levelekkel. A fotoszintézis megindulása után alapvető változás következik be az orchidea anyagcseréjében. Saját maga is elő tud állítani, eddig a gomba által szállított, tápanyagokat, főleg szénhidrátokat. Így a kifejtett, fotoszintetizáló egyedek már fakultatív kapcsolatba lépnek az eddig nélkülözhetetlen (obligát kapcsolat) függőségből (Smith és Read 2008). Bizonyos orchideafajok azonban egész életükben megtartják gombapartnerüktől függő, ún. mikoheterotróf életvitelüket, ugyanis több orchideafaj elindult a fotoszintézis-vesztés útján (Leake 1994). Egyes fajok még zöldek, levelük is van (pl. kislevelű nőszőfű – *Epipactis microphylla*), de a levelek már olyan kicsik, hogy abból fotoszintézissel önmagában nem tudnák fedezni a növekedésükhöz szükséges szénhidrát mennyiséget. Más fajok már zöld színüket is részben elvesztették, ahogyan az ibolyás gérbics (*Limodorum abortivum*) is, bár a fotoszintézisük még működik, de már nem tökéletesen (Parádi és mtsi 2000, Girlanda és mtsi 2006). A levéltelen madárfészek (*Neottia nidus-avis*) pedig már egyáltalán nem fotoszintetizál, és minimális zöld színanyagot tartalmaz (Parádi és mtsi 2000), ami normál körülmények között nem is látszik, ugyanis elfedik az egyéb színanyagok (pl. karotinoidok), ezért látjuk barnás-sárgásnak.

A fán lakó (epifita) orchidea fajok kifejtett korukban kevésbé függenek gombapartnerieiktől, mint a mérsékelt égövi és trópusi talajlakó rokonaik (Ruinen 1953, Richardson és mtsi 1993). A mérsékelt égövön bekövetkező téli, nyugalmi periódus alatt az orchideák többsége elveszti gyökérzete nagy részét és tápanyagraktáraikba, gumóikba húzódnak vissza. Mivel a talajlakó orchideák többségére jellemző gumó részben vagy teljesen gombamentes, így ez azt is jelenti, hogy évről évre megszakadhat ezen orchideafajok és szimbionta gombáik közötti kapcsolat (Smith és Read 2008).

A talajlakó orchideafajok közül a gumóval rendelkezők mellett a másik nagy csoport a gyöktörzset növesztő fajok. A két nagy csoport több tulajdonságában eltér. Az élőhelyek tekintetében a gumósok inkább a gyepekhez, a gyöktörzses fajok inkább az erdei élőhelyekhez kötődnek (Molnár és mtsi 1995). Mikorrhizáltságuk évszakos ritmusában is eltérés mutatkozik a két eltérő tápanyag-raktározó szervvel rendelkező csoport között. A gumós széleslevelű ujjaskosbor (*Dactylorhiza majalis*) és a rizómás kardos madársisak (*Cephalanthera longifolia*) vizsgálatakor a gumós faj magasabb átlagos mikorrhizáltsági

szintet mutatott, ugyanakkor nagy szezonalitást is, vagyis a virágzási periódusban magas, a nyugalmi periódus közeledtével viszont igen alacsony mikorrhiza-jelenlét volt kimutatható a gyökereiből. Ezzel szemben a gyöktörzsos madársisak gyökereiben elszórtan alacsony szintű gombakolonizáltság volt kimutatható, állandó szinten, a virágzási periódustól függetlenül (Látr és mtsi 2008).

A gyökérben létrejövő mikorrhiza-kapcsolat folyamán a gomba hifái a gyökér kortexnek (kéregnek) nevezett külső részében hozzák létre a pelotonokat, melyek ugyanolyan képletek, mint a csíranövények sejtjeiben. A gyökér belső, víz és tápanyagok szállítására szolgáló központi hengerébe nem tud behatolni a gomba. A növény gyökérsejtjeiben egyszerre több gombafaj is jelen lehet, sőt akár egyetlen sejtben is létrehozhat pelotont több gombafaj (Warcup 1971).

Az orchidea-típusú mikorrhizát kialakító gombacsoportok

Rhizoctonia forma-nemzetség

A fotoszintetizáló orchideák nagy részében egy korábban egységesnek tartott gombacsoport uralkodó szerepe mutatható ki (Arditti 1992, Rasmussen 2002). A *Rhizoctonia* forma-nemzetség ivaros szaporító képletek nélküli (anamorf), csak a gombahifa alakot béli belyegeire épülő csoport (Warcup 1981). A gombacsoport egyes izolátumainál sikertült ivaros folyamatokat indukálni (teleomorf gombák), melynek eredményeképpen kiderült, hogy a korábban egységesnek tűnő *Rhizoctonia* forma-nemzetség legalább három, rendszertanilag egymástól távol álló gombacsoportot foglal magában (Warcup és Talbot 1967, 1971, 1980). Ezt a felismerést később a DNS alapú vizsgálatok is alátámasztották (Andersen 1996, Ma és mtsi 2003). Az egyik nagy csoport a Ceratobasidiaceae gombacsald két közel rokon nemzetsége a *Ceratobasidium* és a *Thanatephorus*. A másik két ugyancsak bazídiumos „*Rhizoctonia*” csoport a Tulasnellaceae gombacsald *Tulasnella* nemzetsége és a Sebacinaceae gombacsald *Sebacina* nemzetsége. A lebontó fajok mellett több képviselőjükről kimutatható, hogy mikorrhiza-kapcsolatban él az orchideákon kívül más növényekkel, így például fákkal is együtt élhetnek *Sebacina* fajok ektomikorrhiza-kapcsolatban (Selosse és mtsi 2002). Egy *Tulasnella* fajt pedig olyan nyír ektomikorrhizaként is kimutattak már, amely egy nem fotoszintetizáló májmohát (*Chryptotallus mirabilis*) is mikorrhizál, vagyis összekapcsol egy fotoszintetizáló és egy nem fotoszintetizáló növényt, megteremtve köztük a tápanyagáramlás lehetőségét (Bidartondo és mtsi 2003). A *Tulasnella* gombanemzetség egyes fajai a tágan értelmezett „*Rhizoctonia*” forma-nemzetségen belül az

ugyancsak anamorf *Epulorhiza* nemzetség egyes fajainak teleomorf megfelelői (Warcup és Talbot 1971). Currah és mtsi (1997) a *Ceratorhiza* (teleomorf nemzetségek: *Ceratobasidium*, *Thanatephorus*) és az *Epulorhiza* anamorf nemzetségeket jelölte meg az orchideák leggyakoribb mikorrhiza-gombáiként. Ma és mtsi (2003) két igen eltérő ITS szekvenciájú *Epulorhiza* csoportja közül csak az egyik (1-es csoport) csoport bizonyult *Tulasnella* taxonnak, míg a kettes csoportjuknak, szekvenciái alapján nem lehetett teleomorf megfelelőt találni.

Egyéb bazídiumos és aszkuszos gombacsoportok

A *Rhizoctonia* típusú gombákon kívül egyre több, az említett csoportba nem sorolható bazídiumos gombát mutatnak ki orchideák gyökereiből mikorrhiza partnereként. A tinórugomba-alkatúak (Boletales) (Roy és mtsi 2009), a galambgomba-alkatúak (Russulales) képviselőit (Selosse és mtsi 2004, Girlanda és mtsi 2006, Roy és mtsi 2009, Stark és mtsi 2009) még csak néhány, részben vagy teljesen fotoszintézis-vesztett orchideafaj gyökeréből mutatták ki. A kéreggomba-alkatúak (Thelephorales) rendjéhez tartozó két nemzetség, a *Thelephora* és a *Tomentella* fajai, valamint a kalaposgombák (Agaricales) rendjének több nemzetsége (pl. *Inocybe*, *Cortinarius*, *Hebeloma*, *Hymenogaster*) főleg erdei életmódot folytató orchideáink gombapartnerai, melyek a madársisak (*Cephalanthera*) (Bidartondo és mtsi 2004), a nőszőfű (*Epipactis*) (Selosse és mtsi 2004), a bajuszvirág (*Epipogium*) (Roy és mtsi 2009) és a korallgyökér (*Corallorhiza*) (Zimmer és mtsi 2008).

Az orchideák a már említett bazídiumos gombákon (Basidiomycota) kívül a korábbi feltevésekkel ellentétben aszkuszos gombákkal (Ascomycota) is kialakíthatnak mikorrhiza-kapcsolatot (Bidartondo és mtsi 2004). Egyre több vizsgálat során mutatnak ki főleg erdei orchideafajok (*Cephalanthera*, *Epipactis*) gyökereiből *Tuber* és *Wilcoxina* fajokat (Bidartondo és mtsi 2004, Selosse és mtsi 2004, Ouanphanivanh és mtsi 2008). További tömlősgomba csoportok is kimutathatók orchideák gyökereiből, de ezek rendszertani helyzete, vagy mikorrhiza-alkotó tulajdonsága még kérdéses.

Az eddig taglalt gombacsoportok főleg a hazai, teresztris orchideafajokkal együtt élő gombák felsorolása volt, de ezeken kívül a trópusi teresztris és epifita orchideák mikorrhizái még tágabb spektrumot mutatnak. Ezek közül talán a legérdekesebb a rozsdagombák orchidea kapcsolata (Kottke és mtsi 2010).

Izolálási módszerek

A szimbiózis vizsgálatának egyik elengedhetetlen lépése a gombák izolálása, mellyel vizsgálhatóvá válnak laboratóriumi körülmények között is. Az izolálási módszerek közül a legkorábbi az ún. gyökérszegmens technika (Bernard 1904). A gyökér felületét ebben az esetben alapos mosást követően sterilizálni kell, mert nemcsak a felületén, de a felszíni gyökér bőrszövet (rizodermisz) és az alatta lévő sejtrétegekben is számtalan gomba és baktérium élhet pusztán gyökérlakóként (endofiton), de nem mikorrhizaként. Az így előkészített, majd feldarabolt kis gyökérdarabokat gombatáptalajra helyezik, ami ideális körülményt jelent sok gomba számára, így a szimbionta gombák bizonyos csoportjai is „kicsalhatók” ezzel a módszerrel a gyökerekből. A gyökér mélyebb, felületi sterilizálás által nem érintett területein egyetlen sejtben akár többféle szimbionta, de akár nem szimbionta szervezetek is előfordulhatnak, sőt a szimbionták hiperparazita gombái, és gombákkal szorosan együtt élő baktériumok is együtt nőhetnek az orchidea gombapartnerével, így ezzel a módszerrel óvatosan kell bánni (Vértényi és Bratek 1996). Biztosabb eredményt hozhat, ha a növény gyökerének sejtjeiből közvetlenül emeljük ki a szimbiózist kialakító gombaképletet, a pelotont. Így elkerülhető számos a kapcsolatban aktívan részt nem vevő gomba és baktérium zavaró jelenléte. Újabbban egyre több kutatás fordul a csíranövényekből való gombaizolálás felé (Rasmussen és Whigham 1993, Masuhara és Katsuya 1994, McCormick és mtsi 2004), ami nemcsak az orchidea-gomba szimbiózis legfontosabb, kezdeti szakaszának vizsgálatát teszi lehetővé, hanem természetvédelmi szempontból is előnyösebb, hiszen ezzel a módszerrel nem esik kár a természetes populáció kifejlett egyedeinek gyökérzetében. Az apró orchidea magok oly módon történő talajba helyezése, hogy a későbbiekben visszakereshetők legyenek, speciális körülményeket igényel. Talán az egyik legalkalmasabb módszer, hogy olyan lyukátmérőjű hálóbá (80-100 mikrométer), helyezik ki a magokat, ahol az orchidea magjai már nem esnek ki, de a talajélet minél több résztvevője, így a gombák hifái is szabadon átszöhetnek a hálón keresztül a magokat. Ezzel gyakorlatilag csapdázni lehet egy adott élőhely potenciális orchidea-szimbionta gombáit (Rasmussen és Whigham 1993).

Molekuláris azonosítás

A mikroszkópos bélyegekre épülő határozás mellett egyre jobban elterjednek a molekuláris módszerek. Ezek közül is kiemelkedik a gomba DNS állományának vizsgálata (Kristiansen és mtsi 2001, Ma és mtsi 2003, Dearnaley 2007). A megfelelő DNS szakasz kiválasztásával azonosíthatóvá válnak a fajok. A fajazonosításra leggyakrabban használt DNS szakasz a riboszómák RNS komponenseit is kódoló régió gének közti, ITS elnevezésű része

(többek között: Taylor and Bruns 1997, Bonnardeaux és mtsi 2007). A 600-1000 bázispár hosszúságú riboszómális ITS régió (Internal Transcribed Spacer) úgy tűnik, hogy a gombák esetében a fajok azonosításához jól alkalmazható (Frøslev és mtsi 2007).

A szekvencia-analízis a már izolált gombatörzsek azonosításában is nagy előrelépést jelentett, de a módszer segítségével sikerült korábban nem ismert gombapartnereket is azonosítani (Dearnaley 2007). Kiderült ugyanis, hogy sok szimbióta gomba nem izolálható a klasszikus módszerekkel, ugyanis nem képesek a korábban általánosan használt gomba táptalajokon nőni, vagyis nem csálhatók ki a gyökerekből, vagy az orchidea csíranövényekből. Ezekben az esetekben nem áll rendelkezésre tiszta gombatenyészet, hanem az orchidea szövetében vizsgálják a gombákat (Shefferson és mtsi 2005, Stark és mtsi 2009). A DNS alapú módszerek kiválóan alkalmazhatóak ezekben az esetekben is, ugyanis mikorrhizált növényi szövetdarabból kivont DNS, bár tartalmazza mind a növényi, mind a gomba DNS-t, mégis ezek külön-külön vizsgálhatók maradnak.

Az orchidea-típusú mikorrhiza faj- és élőhely-specifitása

Az orchidea-típusú mikorrhiza kutatottsága elmarad a többi széleskörűen elterjedt mikorrhiza-típusról (ektomikorrhiza, arbuszkuláris) felhalmozott ismeretek mögött (Dearnaley 2007). Egyre többet tudunk az egyes orchideafajok gombapartnereiről, de ezek specifikussága, és az ezzel kapcsolatba hozható gombapartner elterjedési vizsgálatok sok ellentmondást rejtenek (Bonnardeaux és mtsi 2007, Feuerherdt és mtsi 2005).

Általában, ha a növény szervesanyag-termelése csökken, vagy teljesen gátolt, akkor a mikorrhiza-gombának megnő a szerepe a növény széntáplálásában. A mikoheterotrófnak nevezett orchidea taxonoknál általában magas fokú szimbióta specifitást figyeltek meg (Rasmussen 2002, Taylor és mtsi 2003), ami abban nyilvánul meg, hogy a gombapartner nem az általánosságban elterjedt orchidea-szimbióták közül kerül ki. Ezekben az esetekben nem feltétlen beszélhetünk egyetlen gombafajhoz való kötődésről, sőt igen sokféle gomba viselkedhet partnerként, mint például a levéltelen bajuszvirág (*Epipogium aphyllum*) esetében, amiből egy vizsgálat során öt susulyka fajt, egy fakógomba fajt, egy tinórút, egy tejelőgombát és egy szemölcsösgomba fajt (*Thelephora*) mutattak ki (Roy és mtsi 2009), melyek közül több olyan gomba is van, amit más orchideákból még nem jeleztek. A részlegesen mikoheterotróf orchideafajoknál változó a specifitás mértéke, de még náluk is gyakran mutatják ki a speciális kötődést egyes gombataxonokhoz (Girlanda és mtsi 2006). A fotoszintetizáló orchideáknál is

mutattak már ki szűk specifikitást (McCormick és mtsi 2004, Shefferson és mtsi 2005, Irwin és mtsi 2007). A hazánkban élő hagymaburok (*Liparis loeselii*) amerikai rokona, a liliomlevelű hagymaburok (*L. liliifolia*) esetében egyetlen, *Tulasnella* nemzetséghez tartozó gombataxont tudtak kimutatni a növény egyedeiből. Ebben az esetben a specifikitás erősségét nem a speciális gombataxonokhoz való kötődés, hanem az amúgy orchideák körében általánosabban elterjedt gombataxon kizárólagossága adja (McCormick és mtsi 2004).

A természetes élőhelyeken végzett vizsgálatokban kimutatott specifikitást azonban nagyban befolyásolja az élőhelyek heterogenitása, eltérő orchidea-szimbiota diverzitása, így ezt az élőhelyi meghatározottságot ökológiai specifikitásnak nevezték el (Masuhara és Katsuya 1994). Az egyes élőhelyeken nincs jelen az összes potenciális szimbiota gombapartner, így a laboratóriumban kialakítható kompatibilis kapcsolatok száma (potenciális specifikitás) a legtöbb esetben nagyobb, mint ami a természetes élőhelyeken kimutatható (ökológiai specifikitás). Vigyázni kell tehát az élőhelyi vizsgálatok eredményeinek specifikitásra vonatkozó megállapításaival. Jó példa erre Hadley (1970) megállapítása miszerint azért izolálható szinte kizárólag egyféle gomba a *Goodyera repens* fajról, mert a vizsgált élőhelyeken az alacsony pH miatt egy gombára szűkült az elérhető szimbiota gombák száma.

Az úszólápi élőhelyek gombavilágának kutatása

A botanikai ismereteinken túl a tőzeges élőhelyek orchidea-szimbiota gombadiverzitásáról még keveset tudunk. Markus és mtsi (2007) összefoglalják a tőzeges élőhelyek gombavilágát, de 601 taxonjuk között csak egy potenciálisan orchidea-szimbiota szerepel, egy *Rhizoctonia* faj, *Salix* gyökeréről. Markus és mtsi (2007) megállapítják, hogy az aszkuszos gombák dominálnak ezeken az élőhelyeken (46 %). Az aszkuszos gombák viszont orchidea-szimbiotaként kisebb jelentőségűek, mert bár kimutattak *Tuber* fajokat erdei orchideák gyökeréből (Selosse és mtsi 2004, Bidartondo és mtsi 2004, Ouanphanivanh és mtsi 2008), de csak az *Epipactis* és *Cephalanthera* nemzetségekből. Ráadásul a *Tuber* fajok ektomikorrhiza képzésük miatt csak fás élőhelyeken jöhetnek szóba. Neubert és mtsi (2006) a vizes élőhelyek egyik leggyakoribb növényének, a nád gyökerének vizsgálatával viszont többek között *Sebacina vermifera*-t és *Tuber maculatum*-ot is kimutattak, melyek potenciálisan orchidea-szimbioták. A talaj, vagy tőzeg vízzel való telítettsége nagyban befolyásolja az élőhelyek gombadiverzitását, mivel a gombák növekedéséhez elengedhetetlen

az oxigén. Ez vonatkozik a mikorrhiza-gombákra is. A lápokon jóval kevesebb a mikorrhizált növény és a gombák nagy része a felszíni rétegekben él (Rydin és Jeglum 2006). Különösen igaz ez a legnedvesebb lápi élőhelyekre, az úszólápokra, így a Kárpát-medence különböző típusú, korú és méretű úszólápjaira is, melyek gombavilágának feltárása már megkezdődött (Albert és mtsi 2004, Bratek és Zöld-Balogh 2002, Zöld-Balogh és mtsi 2002, Zöld-Balogh és mtsi 2009). Az orchidea-szimbionták közt kiemelkedő jelentőséggel bíró *Tulasnella* (anamorf: *Epulorhiza*) nemzetség egy faját kimutatták extrém vizes környezetből, mint nyír és májmoha közt kapcsolatot biztosító mikorrhiza (Bidartondo és mtsi 2003). Ezek alapján látható, hogy egy-egy gombataxon esetében már rendelkezünk részleges információkkal azok egyes élőhelyi előfordulásairól, és sok lápokon is élő orchidea mikorrhizáját azonosították már, de a vizes élőhelyek szisztematikus orchidea-szimbionta diverzitás-vizsgálata még nem történt meg.

Célkitűzések

Az előző fejezetből kiderül, hogy az orchidea-típusú mikorrhiza kutatása egy dinamikusan fejlődő ága a mikorrhizák kutatásának. Egyre mélyebb tudással rendelkezünk az egyes orchideafajok életciklusáról és gombapartnereinek taxonómiai helyzetéről, valamint a növény-gomba kapcsolat specifikálásáról. Bizonyos ritka fajok esetében azonban ez az alaptudás is még hiányos, ahogyan a hagymaburok (*Liparis loeselii*) és a tőzegorchidea (*Hammarbya paludosa*) esetében is. Nem beszélve a potenciális orchidea-szimbionta gombák élőhelyi kötődéseiről, melyről még alig rendelkezünk ismeretekkel.

A fent vázolt lehetőségek tükrében munkám fő céljait az alábbi pontokban foglaltam össze:

1. A hagymaburok élőhelyi – *in situ* – csíráztatásával a természetes csírázási arány becslése.
2. A hagymaburok és a tőzegorchidea fajok szimbionta gombáinak kimutatása élőhelyen csíráztatott protokormjaikból
3. Hazai vizes élőhelyek orchidea-típusú mikorrhiza-kapcsolatban potenciálisan részt vevő gombacsoportjainak kimutatása, élőhelyi kötődéseiknek feltárása

A felvázolt célok elérése érdekében végzett munka módszereit a következő fejezetben részletezem.

Anyagok és módszerek

Az in situ és ex situ csíráztatás módszere

A csíráztatásba bevont orchideafajok és -élőhelyek

Két orchideafajt csíráztattam természetes élőhelyeiken, a hagymaburkot (*Liparis loeselii*) és a tőzegorchideát (*Hammarbya paludosa*). A hagymaburok magjai a faj velencei-tavi populációjából származtak. A gyűjtésre szeptemberben került sor, amikor a toktermések már megsárgultak, faluk megszáradt, de még nem nyílnak fel. A tőzegorchidea magjai a faj egyetlen ismert hazai termőhelyéről, a gelénesi Bábtaváról származtak. Mindkét faj esetében a begyűjtött, érett magok tárolása tokokból kipergetett állapotban történt, száraz, hideg (5°C) körülmények között.

Élőhelyi, *in situ* csíráztatás módszere

A magok visszakereshető módon történő élőhelyi csíráztatását kis lyukátmérőjű (85 és 100 µm) malomipari szitaszövet segítségével végeztük. A magok a kettéhajtott szövet belsejébe kerültek, majd ezt követően diakerettel erősítettük meg őket (6-7. ábrák), mely egyben le is zárta a szövetet (Rasmussen és Whigham 1993). A diakereteket a talaj, ill. tőzeg legfelső részébe függőlegesen helyeztük ki. Egy helyszínen 5-10 diakeret lett egy csoportban elhelyezve. A diakeretekhez kötött madzagok egy gallyhoz lettek rögzítve, és a helyszín terepi GPS (Garmin GPS72) segítségével is rögzítve lett a visszakeresés megkönnyítése érdekében.



6-7. ábrák: Diakerettel erősített, kettéhajtott szitaszövet üresen, és orchidea magokkal.

A tőzegorchidea *in situ* csíráztatása

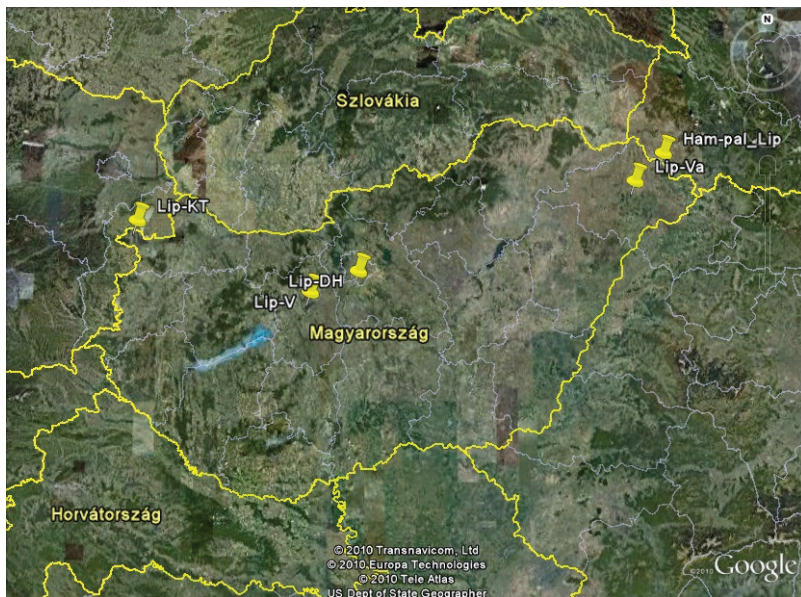
A tőzegorchidea magjainak száma diánként átlagosan 175 (100-400) db volt, és összesen 20 db (elnevezés: Ham-pal_1-20) diakeretbe 3508 mag került. A 20 diakeretbe foglalt magcsomagot a gelénesi Bábtava tőzegorchidea termőfoltjának négy pontján, ötös csoportokba helyeztük ki. A diacsoportok koordináta adatai (földrajzi szélesség; hosszúság decimális fokban megadva): 1-5. dia: 48,18725°; 22,48172°; 6-10. és 11-15. diák két csoportja közel egymáshoz: 48,18687°; 22,48209°; 16-20. dia: 48,18690°; 22,48212°. A diakeretek a tőzegmohapárnák alsó, tőzegesedő részeibe és semlyékeibe kerültek, közel a felszínhez (8. ábra). A diakeretek a vegetációs periódus elején, közvetlenül a lóp felengedését követően lettek kihelyezve (2005. április 13.), begyűjtésükre pedig ugyanazon év vegetációs periódusának vége felé (2005. szeptember 24.) került sor. Három diakeret elveszett. Mivel a mülékony orchideafaj egyedeinek megjelenése előtt kerültek ki a diakeretek és elszáradásuk után gyűjtöttük vissza őket, így az élőhelyen előforduló kifejlett tőzegorchidea töveitől való távolságuk nem ismert, de a Hortobágyi Nemzeti Parknál dolgozó Molnár Attila szakmai útmutatása szerint egyméteres körzetben lehetnek tövei a növénynek.



8. ábra: A tőzegorchidea magjainak kihelyezése a tőzeg felső részébe.

A hagymaburok *in situ* csíráztatása

A hagymaburok magjait két, a faj jelenleg is élő populációjának élőhelyére (Pákozd, Dunaharaszti), egy, a vizsgálati periódus alatt lappangó (2003-tól 2009-ig) populációjának élőhelyére (Kistómalom), egy bizonytalan (2005-től nincs adat) előfordulási helyére (Vaja) és a tőzegorchidea populációjának élőhelyére helyeztük ki (9. ábra). A kihelyezés és a visszagyűjtés közt eltelt idő szempontjából két eltérő kísérletet állítottunk be. Az említett élőhelyek mindegyikén történt azonos éven belül tavaszi kihelyezés és őszi begyűjtés. A Velencei-tavon pedig ezen felül történt őszi magkihelyezés és következő év nyár eleji, őszi és két évvel később őszi begyűjtés is.



9. ábra: A tőzegorchidea és a hagymaburok *in situ* csíráztatásának helyszínei. Lip = *Liparis loeselii*, Ham-pal = *Hammarbya paludosa*, KT = Kistómalom (Sopron), V = Velencei-tó (Pákozd), DH = Dunaharaszti, Va = Vajai-tó (Vaja)

Hagymaburok magkihelyezések adatai helyszínek szerint:

I.: A Sopron melletti Kistómalom láprétre két egymást követő évben is kerültek ki hagymaburok magok. Az első kísérletben a hagymaburok két évvel korábban, utoljára észlelt egyedeinek közelében négy csoportba került ki. Az összesen 20 db, egyenként kb. 500-500 db magot tartalmazó diakeretet (elnevezés: Lip-KT_1-20) a vegetációs periódus elején (2005. ápr. 12.) helyeztük ki. A begyűjtésre pedig fél évvel később, a vegetációs periódus vége felé (2005. okt. 13.) került sor. A diacsoportok koordináta adatai (földrajzi szélesség; hosszúság decimális fokban megadva): 1-5. dia: 47,70875°; 16,62088°; 6-10. dia: 47,70890°; 16,62085°; 11-15. dia: 47,70878°; 16,621050°; 16-20. dia: 47,70896°; 16,62104°. A következő év vegetációs periódusának elején (2006. ápr. 28.) egy transzekt mentén húsz méterenként tíz csoportban, csoportonként hat, egyenként kb. 500-700 db magot tartalmazó diakeret került ki (Lip-KT). Begyűjtésekre fél évvel később, a vegetációs periódus vége felé (2006. okt. 18.) került sor. A diacsoportok koordináta adatai (földrajzi szélesség; hosszúság decimális fokban megadva): 1.: 47.708605°; 16.619790° 2.: 47.708670°; 16.620049°; 3.: 47.708730°; 16.620305°; 4.: 47.708793°; 16.620550°; 5.: 47.708857°; 16.620798°; 6.: 47.708910°; 16.621049°; 7.: 47.708979°; 16.621293°; 8.: 47.709039°; 16.621547°; 9.: 47.709102°; 16.621800°; 10.: 47.709163°; 16.622031°.

II.: A nyírségi Vaja községtől délre található Vajai víztározó égeres úszólápjára összesen 40 db diakeret (elnevezés: Lip-Va_1-40) került négy darab tízes csoportban, diánként kb. 500-500 db hagymaburok maggal a vegetációs periódus elején (2005. ápr. 13.), majd a vegetációs periódus vége felé (2005. szept. 26.) kerültek begyűjtésre. A diacsoportok koordináta adatai (földrajzi szélesség; hosszúság decimális fokban megadva): 1-10. és 11-20. diák két csoportja közel egymáshoz: 47,98607°; 22,14837°; 21-30. dia: 47,98618°; 22,14834°; 31-40. dia: 47,98610°; 22,14844°.

III.: Dunaharaszti mellett a Haraszti-sziget régi hókonyában található úszólápi hagymaburok élőhelyre három csoportban öt-öt, egyenként kb. 500-500 db magot tartalmazó diakeret került (elnevezés: Lip-DH_1-15), egy ötös diakeret csoport (elnevezés: Lip-DH_16-20) pedig az úszóláp melletti kormos csátés láprétre, ahol a vizsgálat ideéig nem lehetett hagymaburok egyedet kimutatni. A magok kihelyezése a vegetációs periódus elején (2005. ápr. 15.) volt, a begyűjtésük pedig a vegetációs periódus vége felé (2005. szept. 29.). A diacsoportok koordináta adatai (földrajzi szélesség; hosszúság decimális fokban megadva): 1-5. dia:

47,35351°; 19,07432°; 6-10. dia: 47,35349°; 19,07421°; 11-15. dia: 47,35348°; 19,07424°; 16-20. dia: 47,35353°; 19,07376°.

IV.: A gelénesi Bábtava tőzegorchideás élőhelyére a tőzegorchideával együtt került ki diacsomagonként kb. 500-500 db maggal annak négy csoportjával egyező helyekre (ld. fent; 2005. ápr. 13.), majd a két faj begyűjtése is egy időben történt (2005. szept. 24.).

V.: A Velencei-tó úszólápjain hagymaburok élőhelyekre és azoktól távolabb is kerültek magok.

1. hely (földrajzi szélesség: 47,19772°; földrajzi hosszúság: 18,54875°): A vizsgálati periódusban csökkenő egyedszámú 30-70 egyedet számláló, 2-es hagymaburok termőfoltban (Illyés 2005) hagymaburok egyedek egy méteres körzetében kerültek magok.

Egy vegetációs időszakra kilenc diakeret (elnevezés: Lip-V1_1-9), egyenként kb. 1000-2000 maggal került kihelyezésre a vegetációs periódus első felében (2003. jún. 21.), melyeket a vegetációs periódus végén két részletben gyűjtöttem be (2003. szept. 9., nov. 3.).

Az őszi kihelyezésű (2003. nov. 1.) tíz diakeret (elnevezés: Lip-V1_10-19), egyenként kb. 300-300 magot tartalmazott és a következő naptári év vegetációs periódusának első felében (2004. jún. 10.) három, vége felé (2004. szept. 10.) három, két naptári évvel később a vegetációs periódus végén (2005. okt. 6.) pedig négy diakeret lett visszagyűjtve.

2. hely (földrajzi szélesség: 47,19871°; földrajzi hosszúság: 18,54707°): A rendszeresen kaszált úszólápi nádastól nyugatra fekvő, disznócsapás mentén élő néhány töves, 5-ös hagymaburok termőfoltban (Illyés 2005) hagymaburok egyedek egy méteres körzetében lettek kihelyezve magok. Az őszi kihelyezésű (2003. nov. 1.) tíz diakeret (elnevezés: Lip-V2_1-10), egyenként kb. 300-300 db magot tartalmazott és a következő naptári év vegetációs periódusának első felében (2004. jún. 10.) három, vége felé (2004. szept. 10.) három, két naptári évvel később a vegetációs periódus végén (2005. okt. 6.) pedig három diakeret lett visszagyűjtve, egy eltűnt.

3. hely (földrajzi szélesség: 47,19892°; földrajzi hosszúság: 18,54788°): A rendszeresen kaszált úszólápi nádas ezres egyedszámú, 4-es hagymaburok élőhelyének (Illyés 2005) szélén, hagymaburok egyedek egy méteres körzetében lettek kihelyezve magok. Az őszi kihelyezésű (2003. nov. 1.) tíz diakeret (elnevezés: Lip-V3_1-10), egyenként kb. 300-300 db magot tartalmazott és a következő naptári év vegetációs periódusának első felében (2004. jún. 10.) három, vége felé (2004. szept. 10.) négy, két naptári évvel később a vegetációs periódus végén (2005. okt. 6.) pedig három diakeret lett visszagyűjtve.

4. hely (földrajzi szélesség: 47,19782°; földrajzi hosszúság: 18,54901°): A rendszeresen kaszált úszólápi nádas ezres egyedszámú hagymaburok élőhelye által körülvelt füzes egyetlen nyírfájának tövében, hagymaburok egyedek egy méteres körzetén kívül lettek kihelyezve magok. Az őszi kihelyezésű (2003. nov. 1.) tíz diakeret (elnevezés: Lip-V4_1-10), egyenként kb. 300-300 db magot tartalmazott és a következő naptári év vegetációs periódusának első felében (2004. jún. 10.) kettő, vége felé (2004. szept. 10.) három, két naptári évvel később a vegetációs periódus végén (2005. okt. 6.) pedig kettő diakeret lett visszagyűjtve, három pedig eltűnt.

5. hely (földrajzi szélesség: 47,19734°; földrajzi hosszúság: 18,55267°): A Kuti-csapástól délre, füzesedett úszólápon tőzegmoha párnában és annak közvetlen környékén, hagymaburok termőfoltoktól több száz méteres távolságban lettek kihelyezve magok. Az őszi kihelyezésű (2003. nov. 1.) öt diakeret (elnevezés: Lip-V5_1-5), egyenként kb. 300-300 db magot tartalmazott és a következő naptári év vegetációs periódusának első felében (2004. jún. 10.) három, vége felé (2004. szept. 10.) pedig kettő diakeret lett visszagyűjtve.

Botanikus kerti, *ex situ* csíráztatás

Az Eötvös Loránd Tudományegyetem Botanikus Kertjében alakítottuk ki az *ex situ* szaporító ládát. A ládába a tőzeg két darabban érkezett a Velencei-tó egyik hagymaburok élőhelyének közeléből a vegetációs periódus közepén (2006. aug. 2.). Korábban a tőzeg származási helyén és annak 10 méteres körzetében nem regisztráltak hagymaburok töveket, valamint a tőzeg gyűjtését követő években sem került elő a gyűjtési hely közeléből hagymaburok töve. A tőzeglabdák a velencei-tavi úszóláp kis darabjai voltak, melyek megőrizték az élőhely növényzetét (10. ábra). A tőzeglabdával érkezett növényfajok: *Calystegia sepium*, *Carex pseudocyperus*, *Lycopus europaeus*, *Mentha aquatica*, *Phalaris arundinacea*, *Phragmites australis*, *Salix cinerea*, *Solanum dulcamara*, *Sonchus arvensis*, *Typha angustifolia*. A hagymaburok magjainak (min. 5000 db) elszórása a tőzeg felszínén a vegetációs periódus vége felé történt (2006. okt. 17.). Az elszórt hagymaburok magok ugyancsak a Velencei-tó orchidea állományából származtak és egy évvel a kísérlet indítása előtt (2005) gyűjtöttük őket.



10. ábra: Az *ex situ* hagymaburok csíráztató láda a Velencei-tóról származó úszóláp darabbal.

Az orchidea-típusú mikorrhiza-vizsgálatok módszerei

A mikorrhiza-vizsgálatba bevont orchidea fajok és élőhelyek bemutatása

A vizsgált élőhelyeken nem él olyan orchideafaj, amely részben, vagy egészen elvesztette volna fotoszintetizáló képességét, így vizsgálatainkat csak fotoszintetizáló fajokkal végeztük, melyeknek általában tágabb a szimbionta gombapartner spektrumuk (Rasmussen 2002). A vizsgálatokba 7 orchideanemzetség 9 fajt vontunk be (zárójelben a dolgozatban használt rövidítéseik szerepelnek). Néhány faj esetében a kifejlett egyedek gyökeréből történő gombaizolálás mellett *in situ* csíráztatott protokormokból is izoláltunk gombatörzseket. Vizsgálatainkba két élőhely-specialista orchideafajt vontunk be, az inkább mészkedvelő úszólápi *Liparis loeselii* (LL) fajt és a mészkerülő, átmeneti és dagadólápokon élő *Hammarbya paludosa* (HP) fajt. A többi, vizsgálatba bevont orchidea taxon szélesebb élőhelyspektrummal rendelkezik. Három orchidea taxont úszólápokon és terresztris élőhelyeken is vizsgáltuk: *Orchis laxiflora* ssp. *palustris* (OL), *Dactylorhiza incarnata* (DI), *Epipactis palustris* (EP). További négy orchidea taxon egyedei csak terresztris élőhelyekről kerültek elő: *Gymnadenia conopsea* (GC), *Ophrys oestrifera* (OX), *O. sphegodes* (OS); *Orchis militaris* (OMt).

Vizsgált élőhelyek

Négy eltérő vízállapotú élőhelytípust vizsgáltunk: három nedves és egy nedves élőhelyekhez kapcsolódó, szárazabb élőhelytípust különböztettünk meg. A nedves élőhelyeket az élőhelyek vízállapot gradiense mentén osztottuk fel. Az első az extrém vizes úszólápi élőhelytípus (úszóláp), melybe a vízben úszó tözegen élő növényzet alkotta élőhelyek tartoznak. Ez az Európa-szerte ritka élőhelytípus nagy területen fordul elő a Velencei-tavon, különböző vastagságú és korú tözegfelszínekkel, ahol a Kárpát-medence legnagyobb hagymaburok állománya él. E mellett a Duna szabályozott szakaszán vizsgáltuk még a Velencei-tavinál fiatalabb úszólápok, ahonnan korábban ugyancsak előkerült a hagymaburok (Illyés 2006). A tözegorchidea szimbionta gombáit egyetlen hazai lelőhelyén *in situ* csíráztatással kapott csírnövényeiből vizsgáltuk. A tözegorchidea élőhelye jelenleg úszó átmeneti láp, így bár cönológiai és vízkémiai paramétereiben jelentősen eltér a hagymaburok élőhelyeitől, vízállapota miatt egy kategóriába soroltuk azokkal. A következő élőhelytípus („teresztris láp”) az ugyancsak állandó vízellátottságú, de teresztris lápi élőhelyeket foglalja magába. A harmadik élőhely-kategória igen változatos volt cönológiai, mert időszakosan szárazzá váló, de alapvetően mély fekvésű területeket foglalt magába („mocsár”). Ennek az élőhelytípusnak a vizsgált területei nagyban függenek a lehulló csapadék mennyiségétől, és a globális szárazodási folyamatoktól is leginkább befolyásolt területek. A negyedik élőhelytípus („sztyep”) a nedves élőhelyek szomszédságában fekvő szárazabb területeket foglalja magába, ahol az év nagy részében a talajvíz nem éri el a felső talajrétegeket.

Az élőhelytípusokat cönológiai is karakterizáltuk. Az egyes vizsgálati helyeken az élőhely típusától függően 2x2 m-es (láprétek, mocsárrétek, sztyeprétek), vagy 5x5 m-es (nadasok) kvadrátokon felvettük a növényzet borítás adatait. Ezután Borhidi (1995) relatív ökológiai indikációs értékskálájának segítségével jellemeztük a négyféle élőhelytípust a relatív talajvíz ill. talajnedvességük (WB index) szerint. A WB index értékei az 1. táblázatban olvashatók.

1. táblázat: Relatív talajvíz, talajnedvesség (WB) értékskála (Borhidi 1995)

WB- érték	Relatív talajvíz, talajnedvesség igény
1	erősen szárazságtűrő növények gyakorta teljesen kiszáradó, huzamosan szélsőségesen száraz termőhelyeken
2	szárazságtűrő növények hosszú száraz periódusú termőhelyeken
3	szárazságtűrő növények, alkalmilag üde termőhelyeken is előfordulnak
4	félszáraz termőhelyek növényei
5	félüde termőhelyek növényei
6	üde termőhelyek növényei
7	nedvességjelző növények, a jól átszellőzött, nem vizenyős talajok növényei
8	nedvességjelző, de rövid elárasztást is eltűrő növények
9	talajvízjelző növények, átitatott, (levegőszegény) talajokon
10	változó vízállású, rövidebb ideig kiszáradó termőhelyek vízi növényei
11	vízben úszó, gyökerező vagy lebegő vízi szervezetek
12	alámerült vízi növények

Az élőhelyek részletes bemutatása az 2. táblázatban látható.

2. táblázat: A vizsgált négy élőhelytípus bemutatása. Az élőhelytípusok WB elemzései az egyes élőhelyekre jellemző minimális, maximális és a legtöbb faj által képviselt WB értékeket tartalmazzák. A nagy borítású növényfajokat az első három élőhelytípus esetében 10 % borítás érték felett tüntettük fel, míg a "sztyep" élőhelytípusban az alacsony borítások miatt a 7 % felettieket szerepeltettük. A vizsgálati helyszínek egy csehországi hagymaburok élőhelyen kívül mind magyarországiak.

1. élőhely típus neve	úszóláp		
Élőhely rövid jellemzése	úszó nádasok-gyékényesek, úszó átmenet láp		
WB elemzés eredmény	WB min.	WB max.	legtöbb faj WB értéke
vizsgálati helyszínenként:	7-8	10	9
Vizsgált orchidea-fajok és vizsgálati helyszínei:			
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	Dunaharaszti, Szigetcsép		
<i>Epipactis palustris</i>	Dunaharaszti		
<i>Hammarbya paludosa</i>	Gelénés		
<i>Liparis loeselii</i>	Dunaharaszti, Pákozd		
<i>Orchis laxiflora</i> ssp. <i>palustris</i>	Dunaharaszti		
Nagy borítású fajok (max. borítás %, WB):			
<i>Thelypteris palustris</i> (95, 9), <i>Salix cinerea</i> (70, 9), <i>Typha angustifolia</i> (70, 10), <i>Phragmites australis</i> (50, 10), <i>Carex acutiformis</i> (15, 9), <i>Eupatorium cannabinum</i> (30, 7), <i>Valeriana dioica</i> (10, 8)			

2. élőhely típus neve	„terresztris láp”		
Élőhely rövid jellemzése	terresztris nádasok, síklápok		
WB elemzés eredmény vizsgálati helyszínenként:	WB min.	WB max.	legtöbb faj WB értéke
	2-7	10	7-10
Vizsgált orchideafajok és vizsgálati helyszínei:			
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	Aszód, Domonyvölgy, Dunaharaszti, Szabadszállás		
<i>Epipactis palustris</i>	Kistómalom		
<i>Liparis loeselii</i>	Ceska Lída - Czech Republic		
<i>Orchis laxiflora</i> ssp. <i>palustris</i>	Balatonszentgyörgy, Kunpeszér, Szabadszállás		
Nagy borítású fajok (max. borítás %, WB):			
<i>Juncus effusus</i> (90, 9), <i>Schoenus nigricans</i> (70, 9), <i>Carex flava</i> (60, 9), <i>Carex gracilis</i> (60, 9), <i>Carex elata</i> (40, 10), <i>Phragmites australis</i> (40, 10), <i>Carex panicea</i> (30, 8), <i>Salix cinerea</i> (30, 9), <i>Calystegia sepium</i> (20, 9), <i>Holoschoenus romanus</i> (20, 8), <i>Cirsium canum</i> (10, 8), <i>Eriophorum latifolium</i> (10, 9), <i>Festuca arundinacea</i> (10, 8), <i>Lysimachia vulgaris</i> (10, 8), <i>Poa pratensis</i> (10, 6), <i>Salix repens</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> (10, 7), <i>Valeriana dioica</i> (10, 8)			

3. élőhely típus neve	„mocsár”		
Élőhely rövid jellemzése	mocsárrétek, kaszálók, kiszáradó láprétek, (egykori homokbánya mély fekvésű részén kialakult mocsárrét)		
WB elemzés eredmény vizsgálati helyszínenként:	WB min.	WB max.	legtöbb faj WB értéke
	2-4	9-10	4-8
Vizsgált orchideafajok és vizsgálati helyszínei:			
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	Kunpeszér, Ócsa, Tokod		
<i>Epipactis palustris</i>	Kunpeszér		
<i>Gymnadenia conopsea</i>	Kunpeszér, Ócsa		
<i>Ophrys oestrifera</i>	Kunpeszér		
<i>Ophrys sphegodes</i>	Ócsa		
<i>Orchis laxiflora</i> ssp. <i>palustris</i>	Dinnyés, Kunpeszér, Ócsa, Pákozd		
Nagy borítású fajok (max. borítás %, WB):			
<i>Alopecurus pratensis</i> (90, 6), <i>Festuca pratensis</i> (70, 6), <i>Briza media</i> (60, 6), <i>Poa pratensis</i> (60, 6), <i>Molinia coerulea</i> (50, 7), <i>Carex panicea</i> (35, 8), <i>Carex distans</i> (30, 7), <i>Phragmites australis</i> (30, 10), <i>Sanguisorba officinalis</i> (30, 7), <i>Carex acutiformis</i> (20, 9), <i>Equisetum x moorei</i> (20, 8), <i>Festuca rubra</i> (20, 5), <i>Galium mollugo</i> (20, 5), <i>Salix repens</i> ssp. <i>rosmarinifolia</i> (20, 7), <i>Centaurea jacea</i> (15, 5), <i>Colchicum autumnale</i> (15, 6), <i>Schoenus nigricans</i> (15, 9), <i>Dactylis glomerata</i> (13, 6), <i>Carex flacca</i> (10, 7), <i>Festuca rupicola</i> (10, 3), <i>Galium verum</i> (10, 4)			

4. élőhely típus neve	„sztyep”		
Élőhely rövid jellemzése	sztyepprért, lejtősztyepp		
WB elemzés eredmény vizsgálati helyszínenként:	WB min.	WB max.	legtöbb faj WB értéke
	2-3	5-8	3-4
Vizsgált orchideafajok és vizsgálati helyszínei:			
<i>Epipactis palustris</i>	Mogyorósbánya		
<i>Ophrys sphegodes</i>	Ócsa		
<i>Orchis militaris</i>	Érd, Mogyorósbánya, Ócsa		
Nagy borítású fajok (max. borítás %, WB):			
<i>Festuca rupicola</i> (70, 3), <i>Brachypodium pinnatum</i> (15, 4), <i>Carex caryophyllea</i> (10, 5), <i>Centaurea sadleriana</i> (8, 3), <i>Inula ensifolia</i> (8, 3), <i>Salvia pratensis</i> (8, 3), <i>Lotus corniculatus</i> (7, 4)			

Gombaizolálás módszerei

Hogy meghatározhassuk az orchidea csíranövények és gyökerek peloton-képző gombáinak jellegzetességeit, a szimbionta gombákat steril módszerrel izoláltuk és burgonyakeményítős táptalajon (PDA) neveltem (Hadley 1970). PDA táptalaj összetétele: burgonyapehely 3 g/l, glükóz 10 g/l, agar 15 g/l. Az izolálás kiindulási anyagát adó csíranövények és a gyökerek felületét 0,1 % AgNO_3 oldattal sterilizáltuk 1-3 percig, majd desztillált vizes mosást követően helyeztem a gomba táptalajra. Közvetlen peloton kiemeléssel is végeztem izolálásokat. Ebben az esetben a félbevágott gyökér cortex sejtjeiből rovartüvel kiemelt pelotonokat 1 ml folyékony burgonyakeményítős tápoldatba helyeztem. Gyökereken kívül csíranövényekből is izoláltam gombákat. Az *in situ*, élőhelyre kihelyezett magokból kifejlődő csíranövényekkel csapdáztam a vizsgált élőhelyen előforduló potenciális orchidea-szimbiontákat, majd a gyökerekhez hasonló módon izoláltam belőlük a gombákat. A izolált gombák törzseit PDA táptalajt tartalmazó ferdített agaros kémcsövekben tartottam fenn. A molekuláris vizsgálatokat megelőzően a vizsgálatra kiválasztott törzseket agar nélküli burgonyakeményítős tápoldatban rázatott folyadékkultúrában szaporítottam fel.

Molekuláris taxonómiai vizsgálatok lépései

DNS kivonás

A DNS kinyerésében néhány módosítással Doyle és Doyle (1987) módszerét alkalmaztuk. A mintákat az előzetesen felszaporított gombák leszűrt és mosott micéliumából vettük, 20-50 mg nedves tömegű gombatelep részletet fölhasználva.

A mintákat kis méretű dörzsmozsarokban kvarchomok és folyékony nitrogén jelenlétében dörzsöltük el. Az eldörzsölt mintákhoz 600-750 μl 2%-os CTAB lízis puffert (lízis puffer: 2% CTAB, 100 mM Trisz-HCl, 1,4 M NaCl, 20mM EDTA) adtunk és 1,5 ml-es centrifugacsövekbe vettük fel. A csöveket 40-60 percen keresztül 60-65°C-os vízfürdőben inkubáltuk, majd a mintákat lecentrifugáltuk (20000 g, 10 perc).

A fehérjét kloroformos kicsapással távolítottuk el két lépésben. A mintákhoz egy térfogat (kb. 600 μl) kloroformot adtunk, majd alaposan összeráztuk és centrifugálással (20000 g, 15 perc) elválasztottuk a vizes és a kloroformos fázist. A felülúszó, DNS-t is tartalmazó vizes fázist új, tiszta centrifugacsöbe pipettáztuk, a fehérjetartalmú kloroformos fázist elöntöttük. Ezután ezt a kloroformos tisztítási lépést megismételtük.

A vizes fázisú felülúszóból a DNS-t két - két és fél térfogat -20°C-os abszolút etanollal kicsaptuk. A kicsapott DNS-t egy órára -20°C-os fagyasztóba tettük, majd centrifugálással (20000 g, 30 perc) leüleptítettük a csapadékot. A felülúszó elöntése után a DNS csapadékot kétszer-háromszor mostuk a következő módszerrel: 200 µl 70%-os, -20°C-os etanolt adtunk a csapadékhoz, majd rövid keverés után centrifugáltuk (5000 g, 5 perc), végül az alkoholos felülúszót elöntöttük. Ezt a mosási eljárást tehát még egyszer, vagy kétszer megismételtük. Végül az alkoholt leöntöttük a csapadékról és a centrifugacsöveket kiszárítottuk. Végezetül a csapadékot 50-100 µl mennyiségű, 0,1 M Trisz pufferben (pH=8) vettük fel.

A DNS felszaporítása (PCR)

Egy extraktumból több különböző hígítással végeztük a PCR reakciót, így közelítve a reakció optimális templát koncentrációját. Az általunk alkalmazott kinyerési eljárás után szinte mindig az 1 µl extraktum volt az optimális mennyiség.

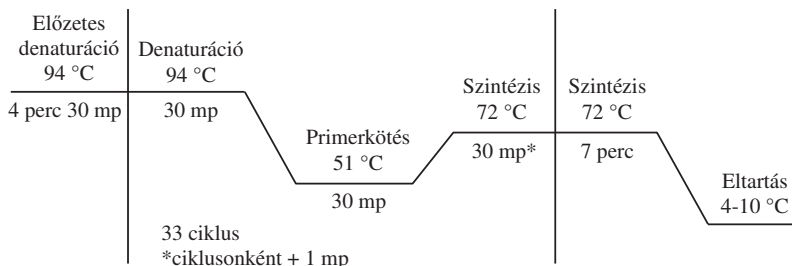
Az amplifikációhoz az esetek többségében a Perkin Elmer cég GeneAmp PCR System 2400 típusú készülékét alkalmaztuk, amelyben maximum 24 darab, 0,2 ml-es PCR cső használható; illetve néhány esetben a Techne cég TC-312 típusú készülékét, mely 25×0,2ml férőhelyes. A PCR elegyek végső térfogata minden esetben 50 µl volt (3. táblázat).

	Kiindulási koncentráció	1 reakcióelegy
steril ultratiszta víz		8,75
reakciópuffer 10×RB		5
dNTP keverék	2-2-2-2 mM	5
MgCl ₂	25 mM	4
primer 1	10 mM	1
primer 2	10 mM	1
Taq polimeráz	5 u/µl	0,25
mastermix térfogata		25
templát DNS-oldat		25
Teljes térfogat		50

3. táblázat. A PCR elegyek összetétele

Az enzim számára a polimeráz reakció megkezdéséhez szükséges oligonukleotidokként, a teljes ITS régió felszaporításakor az ITS1/ITS4, eukariótákhoz univerzálisan használt

primerpárt alkalmaztuk (White és mtsi 1990, Vilgalys 1998). A reakció során beállított paramétereket lásd a 11. ábrán.



11. ábra. Az amplifikáció folyamán alkalmazott idők és hőmérsékletek.

A polimeráz enzim aktiválásához és a templát DNS nagyfokú denaturációjának eléréséért az első ciklus beindítása előtt 4 és fél percig tartó, 94°C-os inkubációt alkalmaztunk, ezen kívül a *Taq* polimeráz ciklusonként csökkenő aktivitását a szálszintézis idejének ciklusonkénti 1 másodperces növelésével ellensúlyoztuk. A reakció végeztével (kb. 2 óra múltán) a mintákat azonnal gélben vizsgáltuk.

Gélelektroforézis

A gélelektroforézishez Horizon 11-14 típusú futtató rendszert (Gibco BRL) használtunk. A gél elkészítéséhez és futtató pufferként egyaránt 0,5× Trisz-bórsav-EDTA (TBE) puffert alkalmaztunk. A gél 1% agaróz tartalmú volt. A kb. 50-60°C-ra visszahűtött agarózoldathoz adtunk hozzá a DNS kimutatására használt etidium-bromidot, 100 ml gélhez 12 µl mennyiségben (0,5 mg/ml törzsoldatból). A mintákból 5 µl-t kivéve és ehhez 1 µl 6×LB jelzőpuffert adva, ezeket a 6 µl térfogatú keverékeket juttattunk a mintafellevő zsebekbe. A PCR-termékek ellenőrzéséhez 5,5-7,5 V/cm fajlagos feszültség mellett 35-60 percig hagytuk vándorolni a DNS-mintákat az agaróz gélben.

A futtatási idő letelte után a gél UV fényel átvilágítva, 595±50 nm-en áteresztő interferenciaszűrőt alkalmazva, digitális, hűtött CCD-kamerával fényképeztük le, a WinView/32 és az Image-Pro Plus kameravezérlő és képfeldolgozó programok segítségével.

PCR-termékek tisztítása, szekvenálás

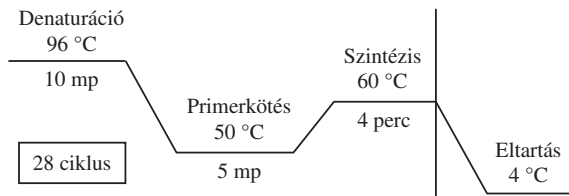
A PCR-termékek tisztítását ultraszűrő membrán (Amicon membrán, Millipore) segítségével végeztük. Az eljárás során a megfelelő pórusméretű ultraszűrő membrán visszatartja a PCR-termék DNS-molekuláit, míg a főleg kismolekulájú anyagok (dNTP, oligonukleotidok, sók) átcentrifugálhatók, végül a DNS a membránról lemosható. A tisztítás eredményét a már részletezett módon gélelektroforézissel ellenőriztük.

A szekvenáló reakcióhoz a BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kit-et (Applied Biosystems) használtuk. A szekvenáló elegy összetétele a 4. táblázatban olvasható.

kit	8 µl	4 µl	3 µl	2 µl	1 µl
hígító puffer 5×	-	2 µl	2,5 µl	3 µl	4 µl
PCR-termék	~6 µl				
primer	30 pmol				
víz	a maradék				
összesen	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl

4. táblázat. A szekvenáló reakcióelegyek összetétele (az alkalmazott *kit* mennyiségétől függően)

A szekvenáló kit tartalmazza a szükséges nukleotidokat (dNTP és fluoreszcens ddNTP), a DNS-polimerázt (módosított *Taq*) és egyéb segédanyagokat. A gélelektroforézis eredményétől függően az egyes mintákból 4-8 µl mennyiséget használtunk, a végső térfogatot steril ultratiszta vízzel állítottuk be 20 µl-re. A szekvenáló reakció során beállított paramétereket lásd a 12. ábrán.



12. ábra. A szekvenáló reakció körülményei

A szekvenáló reakcióelegyekből a jelölt DNS-t 50µl 96%-os etanollal és 2µl 3M Na-acetáttal csaptuk ki, majd keverés és rövid szobahőmérsékletű inkubálás után a csapadékot

lecentrifugáltuk (20 perc, 20000 g, szobahőmérséklet). A felülúszó eltávolítása után etanollal mostuk a DNS-t, majd a csapadékot kiszáftottuk (PCR-készülékben, 90°C, 1 perc).

A kapilláris gélelektroforézis ABI PRISM 310 Genetic Analyser, ill. ABI PRISM 3100 Genetic Analyser készülékben (mindkettő Applied Biosystems) történt.

Molekuláris taxonómiai elemzés és fakészítés

Az elektroferogram formájú DNS-szekvenciákat a Chromas Lite 2.01 program (Technelysium) felhasználásával ellenőriztük. Az esetek többségében ugyanannak a DNS-szakasznak a szekvenciája 3' és 5' irányból is rendelkezésemre állt, így ezeket a párokat is ellenőriztük egymáshoz képest. Az ellenőrzött szekvenciákhoz hasonló, már leközölt adatokat a nemzetközi adatbázisokban (GenBank, EMBL) a BlastN 2.2.25 (Altschul és mtsi 1997), program segítségével kerestük. A DNS-szekvenciák pontos illesztését a ClustalW (Thompson és mtsi 1994) programmal, illetve ugyanazt az algoritmust felhasználó MEGA 4 (Tamura és mtsi 2007) programcsomaggal végeztük. A filogenetikai elemzéseket ugyancsak a MEGA 4 programcsomag programjaival végeztük, a törzsfák megjelenítése és szerkesztése pedig ugyanezen programcsomag Tree Explorer nevű alkalmazásával történt. Az elemzéshez a „szomszédcsatolás” („Neighbor-Joining”) eljárást használtuk, a program Maximum Composite Likelihood helyettesítési modelljét alkalmazva, a hiányzó adatok páronkénti törlésével. A filogenetikai analízisek megbízhatóságát az ún. bootstrap elemző módszerrel tettük próbára, 1000 ismétlést alkalmazva.

A szekvenciákat az európai nemzetközi adatbázisban (EMBL) helyeztük el a következő hivatkozási számokkal: AJ549124 - AJ549126, AJ549128 - AJ549133, AJ549180 - AJ549182, AM040890, AM697888 - AM697958, AM711614 - AM711615, AM711617, AM711619 - AM711620, FM177768 - FM177772.

Eredmények

Az *in situ* és *ex situ* csíráztatások eredményei

In situ csíráztatások eredményei

A tőzegorchidea (*H. paludosa*) magjai csak a saját élőhelyén, a hagymaburok (*L. loeselii*) magjai pedig jelenlegi és egykori élőhelyein, valamint a tőzegorchidea élőhelyén is kihelyezésre kerültek. Az egyes vizsgálati helyszíneken történt csírázási arányokat az 5. táblázatban összegeztem.

5. táblázat: A tőzegorchidea és hagymaburok csírázási eredményei helyszínenként.

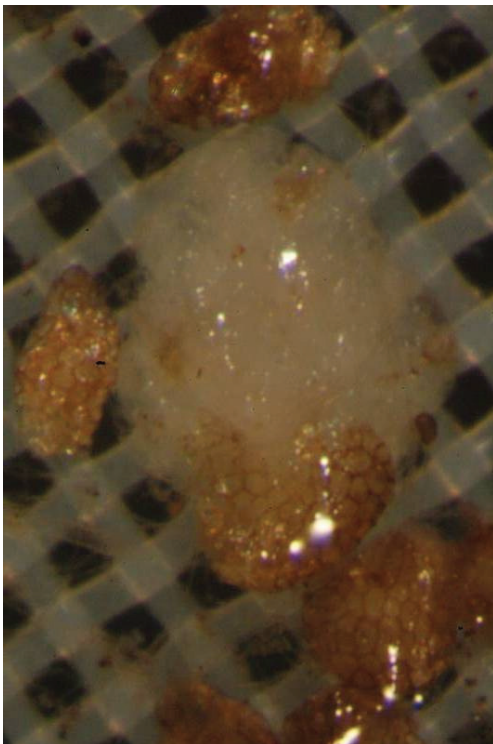
Kihelyezett mag	Helyszín	Orchidea egy méteren belül	Összes dia / sikeres dia (db/db)	Csírázási arányok átlaga / szórása	Sikeres diák csírázási arány átlaga / szórása
<i>H. paludosa</i>	Bábtava	<i>H. paludosa</i>	17/5	0,82 % / 2,01	2,78 % / 3,07
<i>L. loeselii</i>	Bábtava	<i>H. paludosa</i>	20/0	0	0
	Vajai-tó	-	40/0	0	0
	Kistómalom	-	76/0	0	0
	Dunaharaszti	-	5/1	0,08 % / 0,18	0,40 %
	Dunaharaszti	<i>L. loeselii</i>	15/1	0,03 % / 0,12	0,40 %
	Velencei-tó 1	<i>L. loeselii</i>	19/4	0,26 % / 0,52	1,25 % / 0,13
	Velencei-tó 2	<i>L. loeselii</i>	9/7	2,44 % / 1,96	3,14 % / 1,60
	Velencei-tó 3	<i>L. loeselii</i>	10/1	0,13 % / 0,42	1,33 %
	Velencei-tó 4	-	7/0	0	0
	Velencei-tó 5	-	5/0	0	0

A tőzegorchidea élőhelyére kihelyezett 20 diakeret közül 17 volt visszagyűjthető. A négy diacsoport közül háromban volt csíranövényeket tartalmazó dia. Az összesen több mint 2500 visszagyűjtött magból 22 csírázott. A csíranövények fejlettségi állapota igen eltérő volt. A gömb stádiumú protokorttól (14. ábra) a három levélkét növesztett, 10 mm hosszúságot meghaladó hajtásos csíranövényekig több fejlődési stádium is megfigyelhető volt (13. ábra).



13. ábra: Fejlett, leveles hajtással rendelkező, 23 mm hosszú tőzegorchidea csíranövény (2005. szept. 26).

14. ábra: Még differenciálatlan, kisméretű (1 mm) tőzegorchidea protokorm (2005. szept. 26).

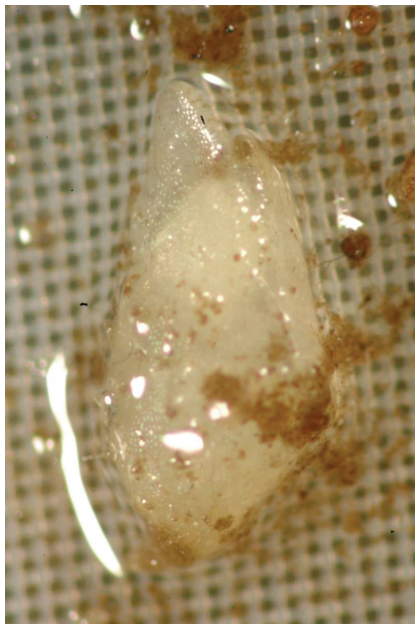


A hagymaburok összesen 206 visszagyűjtött diakeretében levő több mint 110000 db magból összesen 141 db csírázott ki. A tőzegorchidea élőhelyén, valamint az aktuális hagymaburok előfordulással nem rendelkező élőhelyeken nem csírázott a növény egyetlen magja sem, ami azt jelenti, hogy a Bábtavára kihelyezett mintegy 10000 mag, a vajai víztározó úszólápjára kihelyezett 20000 db mag és a Kistómalmi láprétre kihelyezett minimum 44000 db mag egyike sem csírázott. Egy esetet kivéve ott sem csíráztak a növény magjai, ahol a közeli (10-100 m-en belül) hagymaburok populáció ellenére egy méteren belül nem fordult elő kifejelett példánya az orchideának. Ilyen helyek voltak a több ezres hagymaburok egyedszámmal bíró velencei-tavi populáció környékén kijelölt velencei-tavi 3. és 4. kísérleti helyszínek. Ugyanakkor a Dunaharaszti kísérleti helyen öt diakeret messzebb került az ismert hagymaburok tövektől, sőt nem is úszólápra, hanem az azt körülvevő láprétre került, és ennek ellenére az egyik diakeretben két mag csírázásnak indult. Azokban az esetekben pedig, amikor a diakeretekhez közel, vagyis egy méteren belül a természetes hagymaburok populáció legalább egy egyede megtalálható volt, akkor a diacsoportokban minden esetben történt csírázás.

A Velencei-tavon a hagymaburok magjait a kihelyezést követően különböző időközönként gyűjtöttük vissza, hogy információt nyerjünk a csírázás folyamatának időbeli lefutásáról is. A Velencei-tavon az első három vizsgálati helyszínen történt csírázás. Az első helyszínen két egymást követő vegetációs periódusban is történt csíráztatási kísérlet. Az első (2003. június 21.) kihelyezést követő bő két (2003. szeptember 9.) és három (2003. november 3.) hónappal későbbi visszagyűjtéseknél mindkét esetben volt csírázás. Az ezt követő, második magkihelyezés (2003. november 1.) után viszont nem történt csírázás a vizsgálat két évében. A második helyszínen a vegetációs periódus végi kihelyezést (2003. november 1.) követően minden ellenőrzés alkalmával voltak csíranövények. A következő vegetációs periódus eleji ellenőrzéskor (2004. június 10.) duzzadt magok és hajtásos protokormok kerültek elő, míg ezen vegetációs periódus végi (kihelyezés után 10 hónappal, 2004. szeptember 10.), illetve a vetést követő második év vegetációs periódus végi (2005. szeptember 6.) ellenőrzéskor is hajtásos protokormok kerültek elő. A második évben talált, jól fejlett csíranövények (15. ábra) között voltak olyan fejlettségi szintű és méretű protokormok is, mint az első évben talált fejletlenebb protokormok (16. ábra), ami arra utal, hogy a második évben is történt csírázás. A harmadik vizsgálati helyszínen csak az első ellenőrzés alkalmával került elő csírázó mag, vagyis az őszi vetést (2003. november 1.) követő év vegetációs periódusának elején (2004. június 10.).



15. ábra: Fejlett, leveles, nagyméretű (15 mm) hagymaburok csíranövény (2005. szept. 6.).



16. ábra: A vetést követő második évben talált kisebb méretű (4 mm), hajtásos hagymaburok protokorm (2005. szept. 6.).

Az *ex situ* csíráztatás eredményei

A hagymaburok magjainak szórását (2007. július 19.) követő vegetációs periódusban már három fejlett, leveles hagymaburok egyed észlelése történt. Egy 4 mm-es, egy levelet növesztő, egy ugyancsak 4 mm-es, de már második levelet is növesztő (17. ábra) és egy nagyobb, 35 mm-es levélhosszúságú, két leveles egyed (18. ábra) került elő az *ex situ* szaporító ládából. A vetést követő második év vegetációs periódusának első felében (2008. június 3.) pedig már 11 fő került elő: két kis méretű (5-15 mm), egy leveles, öt nagyobb méretű (15-35 mm), egy leveles és négy nagyobb méretű (20-40 mm), két leveles egyed.



17. ábra: A második levelét növesztő, kisméretű hagymaburok az ELTE Botanikus Kertjében kialakított *ex situ* csíráztató tőzgefelszínen a magvetést után kilenc hónappal (2007. július 19.).

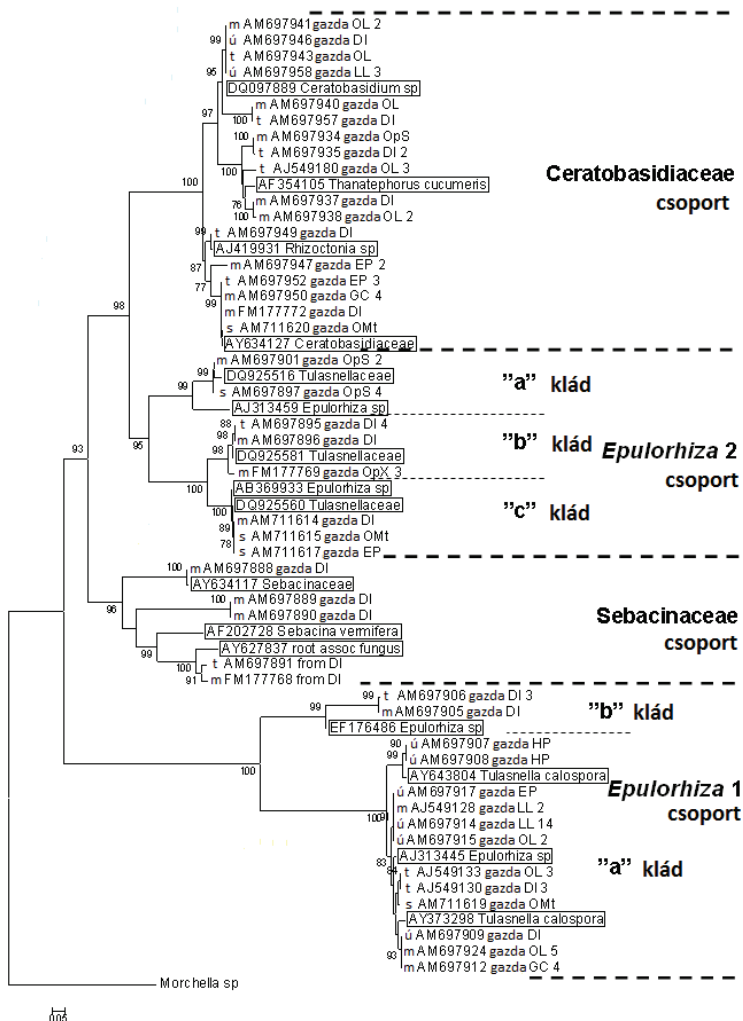


18. ábra: Kétleveles, nagyméretű hagymaburok egyed az ELTE Botanikus Kertjében kialakított *ex situ* csíráztató tőzgefelszínen a magvetést után kilenc hónappal (2007. július 19.).

Az orchidea-típusú mikorrhiza-vizsgálatok eredményei

A négy élőhelytípusról származó kilenc orchideafaj gyökereiből és az előző fejezetekben tárgyalt élőhelyeken csíráztatott protokormokból kitenyésztett gombatörzsek közül 94 törzset vizsgáltunk molekuláris taxonómiai módszerrel. A 94 vizsgált törzs ITS szekvenciái közül több 100 %-os egyezést mutatott. Ezek közül azok, amelyek ugyanazon orchideafajból és élőhelytípusról származnak, egy szekvenciaként kerültek föl a filogenetikai törzsfára (19. ábra). Így 43 különböző szekvenciát tüntettünk fel a fán. Az egyes csoportok a bazidiomikótákon belül taxonómiailag távoliak és helyzetük még nem minden esetben kifarrott, így a fa gyökereztetéséhez jobbnak láttuk egy aszkuszos gombát választani (*Morchella* faj), melyet egyébként szintén orchideafajról, egy *O. oestrifera* gyökeréről izoláltunk.

A törzsek teljes ITS szekvenciáinak rokonsági viszonyai alapján négy eltérő orchidea-szimbionta gombacsoportot tudunk kimutatni. A csoportok szekvenciáival legnagyobb hasonlóságot mutató, publikált szekvenciák adatait a 6. táblázat tartalmazza. A négy csoport a teresztrisz orchideáknál gyakran előforduló szimbionta gombacsoportoknak felel meg, amelyek a Sebacinaceae és a Ceratobasidiaceae családba, valamint a Tulasnellaceae család egymástól DNS-alapon markánsan elkülönülő két csoportjába tartoznak.



19. ábra: „Szomszédcsatolás” eljárással készült konszenzus törzsfaja az összes gombatörzs szekvenciája és referenciák bevonásával. A fa szerkesztése, 1000 véletlenszerű ismétlést (bootstrap) figyelembe véve, a MEGA 4 programcsomag „Neighbor-Joining” algoritmusának felhasználásával történt. Skála: nukleotidszekrék száma pozícióként. A külső csoport egy *Ophrys oestriifera* gyökeréből izolált *Morchella* faj ITS szekvenciája. Kódok: ú = úszóláp, t = „terresztris lép”, m = „mocsár”, s = „sztyep”. A hivatkozási számokat és a gazda orchideafajt jelölő két karaktert is feltüntetjük. A taxon rövidítések végén található számok az ághoz tartozó azonos szekvenciák számát jelölik.

A legkisebb csoport mindössze 5 szekvenciát foglal magában, melyek szekvencia hasonlóságok elemzésével a Sebacinaceae család rokonsági körébe tartoznak. Az ITS szekvencia variabilitása a csoporton belül nagyon nagy, a hasonlóság 31-99 % között változik. A teljes ITS régió tartalmazza az 5,8 S rRNS gént is, amely a nem kódoló részekhez képest jóval konzervatívabb. Ebben a génben nagy hasonlóságot találtunk (97-100 %) a csoport gombái között. Mind az öt gombatörzset *Dactylorhiza incarnata* gyökereiből izoláltuk változó vízállású („mocsár”) és nedves élőhelyekről.

A második legnagyobb csoport a Ceratobasidiaceae család szekvenciáival azonosítható, 30 db vizsgált törzssel. Az ITS régió variabilitása a csoporton belül 80 és 100 % közötti, az 5,8 S géné pedig 99-100 %. Az előző csoporthoz képest (ld. Sebacinaceae) kicsi a csoporton belüli variabilitás, mégis két különböző nemzetséggel mutatnak 90 % feletti hasonlóságot a törzsek ITS szekvenciái: a *Ceratobasidium* és a *Thanatephorus* GenBank-ból származó szekvenciáival (6. táblázat). A csoport gombái a *Hammarbya* nemzetségen kívül minden vizsgált orchidea nemzetségből kimutathatóak voltak és mind a négy vizsgált élőhelytípusról előkerültek.

A Tulasnellaceae rokonsági körbe tartozó szekvenciáink a törzsfán két távoli csoportként jelennek meg, ezeket *Epulorhiza* 1 és *Epulorhiza* 2 csoportoknak nevezzük, Ma és mtsi (2003) alapján. A két csoport szekvenciái között igen kicsi a hasonlóság: ITS: 20-28 %, 5,8S: 61-75 %. Az „*Epulorhiza* 1” csoport két kládra különíthető el (a és b), melyek között az ITS szakasz hasonlósága 38-47 %, az 5,8S szakaszé pedig 83-84 %. Az „*Epulorhiza* 1a” kládba 38 gombatörzs tartozik. A kládon belüli szekvencia hasonlóság magas: ITS 87-100 %, 5,8S 96-100 %. A *Hammarbya paludosa* gyökeréről izolált gombák kissé eltérnek a klád többi szekvenciájától, egy külön alcsoportot alkotnak, hasonlóságuk a klád többi szekvenciájához 87-89 %. A klád többi szekvenciája egymás között 95 % feletti hasonlóságot mutat. Ezek az *Ophrys* és az előbb említett *Hammarbya* nemzetségen kívül az összes vizsgált orchideafajból kimutathatóak voltak. Főleg úszólápi élőhelyeken domináltak, de kisebb számban a többi vizsgált élőhelyről is előkerültek.

Az „*Epulorhiza* 1b” kládot négy gombatörzs képviseli. A kládon belüli szekvencia hasonlóság igen nagy: ITS 97-100 %, 5,8S 99-100 %. Csak *Dactylorhiza incarnata* gyökeréből izoláltuk nedves („terresztris láp”) és változó vízállapotú („mocsár”) élőhelyekről.

Az „*Epulorhiza* 2”-es csoport ITS szekvenciái nagyon variábilisak, a teljes ITS hasonlósága csak 49-55 %, de az 5,8S génnél már 93-98 % a csoporton belül. Három klád

különül el, közülük az első, az „*Epulorhiza* 2a” csak *Ophrys sphegodes* gyökereiből származó gombákat tartalmaz, száraz („sztyep”) és átmeneti vízellátottságú területekről („mocsár”). A klád nagyon egységes, az ITS 99-100 %, 5,8S 100 % hasonlóságokat mutat. Ez a csoport kissé elkülönül az *Epulorhiza* 2b és 2c kládoktól, amelyek a filogenetikai fán jóval közelebbi rokonságot mutatnak egymással.

Az „*Epulorhiza* 2b” klád két vizsgált orchideafaj, a *Dactylorhiza incarnata* és az *Ophrys oestrifera* gyökereiről izolált gombák szekvenciáit tartalmazza, melyek mind átmeneti vízellátottságú területekről („mocsár”) származnak. A kládon belüli szekvencia hasonlóságok: ITS 94-100 %, 5,8S 100 %. Az „*Epulorhiza* 2c” klád *Dactylorhiza incarnata*, *Epipactis palustris* és *Orchis militaris* gyökereiről izolált egy-egy gomba teljesen megegyező szekvenciáját foglalja magába, melyek az *Epulorhiza* 2a kláddal hasonlóan száraz („sztyep”) és átmeneti vízellátottságú területeken („mocsár”) is előfordultak.

6. táblázat: A törzsfán elkülönített orchidea mikobionta csoportok jellemzése az összes gombaszekvenencia feltüntetésével. Az orchideafajokból izolált gombaszekvenenciák közül azokat, amelyek a törzsfán szerepelnek, vastag betűvel jelöltük, a zárójelben az ezekkel azonos szekvenenciák azonosítószámait tüntettük fel. A nemzetközi adatbázisban szereplő publikált szekvenenciák közül a leginkább hasonló adat azonosítóját és a hasonlóság mértékét szintén feltüntettük. Az aláhúzás orchidea mikobiontákat jelöl.

Klád	legnagyobb publikált szekvenenciák adatai		
	hasonlóság	hív.szám	leírás
Sebacinaceae			
DI: AM697888	99%	<u>AY634117</u>	Sebacinaceae, származás: <u>Epipactis gigantea</u>
DI: AM697889, AM697890	99%	AJ744852	nem kitenyészett gomba, származás: <u>Robinia pseudoacacia</u>
DI: AM697891, FM177768	87-88%	AY627837	<u>Epacris pulchella</u> gyökeréhez kapcsolódó gomba
Ceratobasidiaceae			
DI: FM177772; EP: AM697952 (AM697953, AM697954); GC: AM697950 (AM697951, AM697955, AM697956); OMt: AM711620	99-100%	<u>AY634127</u>	Ceratobasidiaceae, származás: <u>Epipactis palustris</u>
DI: AM697935 (AM697936), AM697937; OL: AM697938 (AM697939); OpS: AM697934	91-92%	AF354104	<u>Thanatephorus cucumeris</u> , származás: burgonya
OL: AJ549180 (AJ549181, AJ549182)	96%	AF354104	<u>Thanatephorus cucumeris</u> talajból
DI: AM697957; OL: AM697940 DI: AM697946;	90%	<u>AF472285</u>	<u>Ceratobasidium</u> faj, származás: <u>Psychlis monensis</u>
LL: AM697958 (AM697944, AM697945); OL: AM697941 (AM697942); AM697943	97%	DQ097889	<u>Ceratobasidium</u> faj
EP: AM697947 (AM697948)	94%	<u>AY634128</u>	Ceratobasidiaceae, származás: <u>Epipactis helleborine</u>
DI: AM697949	99%	AJ419931	<u>Rhizoctonia</u> faj, származás <u>Pinus sylvestris</u>
Epulorhiza 1a			
DI: AM697909, AJ549130 (AJ549131, AJ549132); EP: AM697917; GC: AM697912 (AM697913, AM697922, AM697923); HP: AM697907, AM697908;	95-97%	AY373298	<u>Tulasnella calospora</u> (anamorf: <u>Rhizoctonia repens</u>)
LL: AM697914 (AM697918, AM697919, AJ549124, AM697925-AM697933, AM040890), AJ549128 (AJ549129); OL: AJ549133 (AJ549125, AJ549126), AM697924 (AM697910, AM697911, AM697920, AM697921), AM697915 (AM697916); OMt: AM711619	95-97%	<u>AJ313445</u>	<u>Epulorhiza</u> faj, származás: <u>Spathaglotis plicata</u>
Epulorhiza 1b			
DI: AM697906 (AM697903, AM697904), AM697905	94%	<u>EF176486</u>	<u>Epulorhiza</u> faj, szárm.: <u>Disa bracteata</u>
Epulorhiza 2a			
OpS: AM697897 (AM697898-AM697900), AM697901 (AM697902)	96%	<u>DQ925516</u>	Tulasnellaceae, származás: <u>Cypripedium macranthum</u>
Epulorhiza 2c			
DI: AM697895 (AM697892-AM697894), AM697896; OpX: FM177769 (FM177770, FM177771)	97-98%	<u>DQ925581</u>	Tulasnellaceae, származás: <u>Cypripedium parviflorum</u>
Epulorhiza 2b			
DI: AM711614; EP: AM711617; OMt: AM711615	99%	<u>DQ925560</u>	Tulasnellaceae, származás: <u>Cypripedium calceolus</u>

Eredmények értékelése

Lápi orchideafajok életmenet-vizsgálat eredményeinek értékelése

A hagymaburok *in situ* csíráztatás eredményeinek értékelése

Az összes visszagyűjtött hagymaburok magnak csak 0,1%-a csírázott (141 db csíranövény 112700 db magból). Ha csak azokat a magokat vesszük figyelembe, melyek élő hagymaburok tövek egy méteres körzetébe kerültek (Velencei-tó 1-es, 2-es és 3-as kísérleti helyén 21500 mag, Dunaharaszti 7500 mag) az arány ötszörösére nő, azaz 0,5%-os. A laboratóriumi életképességi tesztekben kimutatott 80%-os arány (McMaster 2001) és mesterséges táptalajokon történő csíráztatásokban kapott 25-40% (Henrich és mtsi 1981, Illyés és mtsi 2005), vagy ennél is magasabb (Illyés 2003) csírázási arányok arról árulkodnak, hogy a magok csírázási potenciálja nagyobb, mint azt az *in situ* csírázási eredményeink mutatják. Az alacsony csírázási arány feltételezhetően a szimbionta gomba kis mennyiségének köszönhető az amúgy is gombáknak kedvezőtlen folyamatosan vízzel elárasztott és ezáltal levegőtlen tőzegtalajban. Ezt a magyarázatot támasztja alá az a megfigyelés, hogy a diakeretekben a csírázó magok általában egy csoportban („gomba találati hely”) tömörültek (20-21. ábrák), valamint az az eredmény is, hogy szinte kizárólag élő hagymaburok tövek közelében történt csírázás. A gomba gyakoribbnak tűnik az élő hagymaburok tövek közelében. De az is lehet, hogy a gomba által jobban átszótt talajrészleteken jelenik meg természetes módon is nagyobb gyakorisággal a növény? Ha az orchideákat, mint pusztán gombáktól függő mikoheterotróf szervezeteket tekintjük (Leake 1994), akkor feltételezhető, hogy a növény követi a gombát, míg ha a mutualista szimbiózis elmélete az igaz (Cameron és mtsi 2006), akkor a gomba feldúsulása is elképzelhető a növénypartnere körül.

Érdekes eredmény, hogy a Velencei-tó 2-es vizsgálati helyén az egymást követő két csíráztatási kísérletben csak az első (2003) alkalommal történt csírázás, a második (2003-2004-2005) kísérletben már ugyanazon a helyen nem találtunk csíranövényeket. Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy az élőhelyfoltok évről évre változhatnak. A 2004-től rendszeresen monitorozott hagymaburok élőhelyen a virágzó egyedek csökkenése mutatható ki. A termőfolt egyedszámai/virágzó tövek száma [db/db] 2004 és 2010 között: 67/22; 34/14; 53/9; 42/7; 51/5; 14/1; 19/0 (Illyés 2010 jelentés). A termőfolt tehát hanyatlást mutat, aminek

egyik lehetséges oka, hogy a szimbionta gomba jelenléte gyengül a termőfolton, ami az egymást követő csíráztatási kísérleteinkben való hasonló negatív tendenciával is párhuzamba állítható.



20. ábra: Öt fejlett protokorm egy csoportban.



21. ábra: Kilenc kisméretű protokorm egy csoportban.

A vegetációs periódus elején kezdett és végén ellenőrzött kísérletben a kapott csírázás azt bizonyítja, hogy nincs szükség a csírázáshoz a téli hidegre, vagyis a hagymaburok magja sok mérsékelt övi orchideával ellentétben nem igényel vernalizációt. Ez az eredmény összecseng a korábban végzett *in situ* csíráztatási kísérletek eredményeivel (Illyés 2003), mely során hidegkezelés hiányában is nagyarányú csírázás volt tapasztalható. Rasmussen (1995) a mérsékelt övi orchideáknál általánosan elterjedt tavaszi csírázást a téli periódusban felhalmozódó holt biomassza szimbionta gombákat stimuláló hatásával indokolja. A hagymaburok esetében a vegetációs periódus elején és a végén is voltak kisméretű, fiatal csíranövények, ami folyamatos csírázással magyarázható, ellentétben az előbbi elmélettel. Az úszólápi tőzeg viszont eltér az átlagos talajoktól abban, hogy folyamatos tápanyag-utánpótlást biztosít, hiszen az anyagát szinte kizárólag elhalt növényi részek alkotják. E mellett az

úszólápi élőhely nagy állandóságot biztosít az egész év során hőmérséklet és vízellátottság szempontjából is, ami magyarázhatja a teljes vegetációs periódusra kiterjedő csírázási hajlamot.

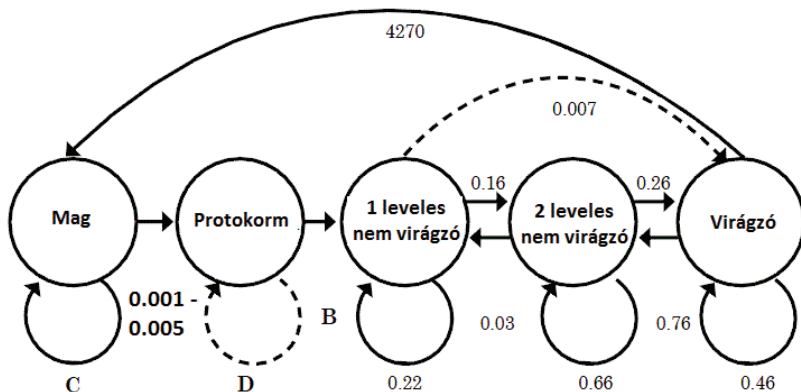
A két vegetációs periódusra kiterjedő csíráztatási kísérlet eredménye bebizonyította, hogy hagymaburok magjai legalább két évig életképesek maradhatnak, vagyis magbankot hoznak létre.

A hagymaburok *ex situ* csíráztatás eredményeinek értékelése

Az őszi vetést követő évben, alig több mint fél évvel a magok vetése után a talaj felszínén már levelet is növesztő egyedek jelentek meg, ami Mrkvicka (1990) vetést követő egy éven belüli hajtásképzés kimutatását igazolja. A korai levélképzés megfigyelése módosítja Ziegenspeck (1936) jóval lassabb, mintegy öt évig is eltartó hajtásképzési adatát. A hagymaburok szimbionta gombapartnere jelen volt a megfigyelt periódusban a mesterséges, nem úszólápi környezetben, hiszen a csírázás csak ennek jelenlétben következhetett be. A csírázási arány az első évben még csak 0,06% volt, de ez a következő vegetációs periódusra 0,2% körüli értékre javult, ami nagyságrendileg megegyezik az *in situ* csíráztatás eredményeivel. A kis csírázási arány ellenére a növények természetest imitáló környezetben való növekedése életkésebb egyedeket eredményez a laboratóriumban, gomba nélkül, vagyis aszimbiotikusan nevelt társaiknál. Az eredmények tükrében a faj aktív védelmét megalapozó szaporítási módszerek kiválasztásában elsősorban a rendelkezésre álló magok mennyisége jelölheti ki az irányt, ugyanis kevés mag esetén az aszimbiotikus, *in vitro* csíráztatás több egyedet eredményez, sok mag esetén viszont alkalmazható *ex situ* (*ex vitro*) csíráztatás is, ami biztosan életképes egyedeket eredményez.

A hagymaburok életmenete a csíráztatási kísérletek tükrében

Sikerült a Wheeler és mtsi (1998) által kapott hagymaburok életciklus adatokat tovább bővíteni. A lápi kosbor faj földalatti, korai életszakaszának vizsgálatával kísérletet tettünk a természetes környezetben történő csírázás arányának meghatározására. Az eredményeink azt mutatták, hogy a magok szinte kizárólag a már élő hagymaburok tövek 1 m-es környezetében csíráztak és ott is csak a magok 0,5%-a (22. ábra). Igen kismértékű csírázás volt élő kosbor tövek 1 m-es körzetén kívül és az *ex situ* környezetben is. Ez utóbbi esetben két éven belül a magok 0,2%-a csírázott.



22. ábra: A hagymaburok (*Liparis loeselii*) életciklus modellje (Rolfmeier 2007 alapján), a magból történő protokorm képzés arányával kiegészítve.

Az életciklus eddig feltárt részeinek egymásba alakulási arányai, ami eddig csak a mag – protokorm – 1 leveles nem virágzó – 2 leveles nem virágzó – virágzó növény ismert átmeneteit vette figyelembe, felhívják a figyelmet a faj önfenntartó populációinak sérülékenységére. Vizsgálataimmal a felvázolt életciklus modell a faj még nagyobb mértékű sebezhetőségét erősíti. Egy átlagos fűtméretű, vagyis 5 virágú virágzó egyed, ha a virágok 80%-a porzódik be, akkor átlagosan 4×4270 db magot termel. Ezek közül az általunk számított 0,5%-os csírázást és a protokormok 100%-osan egy leveles egyeddé alakulását feltételezve (22. ábra: „B”, eddig ismeretlen arányszám), csak négy újabb virágzó egyed nevelkedik ($4 \times 4270 \times 1 \times 0,005 \times 0,16 \times 0,26$). A magok élő hagymaburok tövektől távolabb kerülésével a csírázási arány lecsökkenhet, akár 0,1%-ra, amikor is az előbbi számolás alapján az átlagos fűtből már csak egy újabb virágzó egyed fejlődik. Nem ismerjük még a protokormok egy leveles egyeddé alakulásának arányát (22. ábra: „B”), de az életciklus többi adatának birtokában feltételezhető, hogy nem 100%. A hagymaburok populációk önfenntartó képessége tehát nagyban függ a csírázási aránytól, amit a szimbionta gomba jelenléte és annak gyakorisága alapvetően befolyásol.

Az egykori hagymaburok lelőhelyeken (Vajai-tó, Kistóalmi láprét) végzett csíráztatás eredménytelenségét lehetne azzal magyarázni, hogy a hagymaburok tövek eltűnése együtt járt a csírázáshoz elengedhetetlen szimbionta gomba eltűnésével. A vizes élőhelyeken végzett orchidea-szimbionta vizsgálatok viszont azt mutatják, hogy az úszólápon domináns hagymaburok szimbiontával egyező, és hozzá igen hasonló szekvenciájú gombatorzsek

minden vizsgált élőhelyen előfordultak, vagyis nem a gomba hiánya lehet a limitáló tényező, ami megerősíti Feuerherdt és mtsi (2005) eredményeit, akik az ugyancsak igen ritka *Arachnorchis behrii* gombapartneréről mutatták ki, hogy szélesebb körben elterjedt, mint az orchidea. Mindenesetre a magok és a gombahifák egymásra találása a gomba élőhelyi előfordulása ellenére is ritka lehet, amit az *in situ* kísérletben tapasztalt csoportokban csírázás is bizonyított. Úgy tűnik, hogy ahol már történt egyszer csírázás és kifejlett egyeddé tud növekedni a hagymaburok tő, ott nő a további csírázások esélye is, feltételezhetően a gomba orchidea körüli feldúsulása miatt. Természetvédelmi szempontból ez a tény a növény és a gomba együttes védelmét, szaporítását szorgalmazza. A laboratóriumban nevelt egyedek kiültetésekor biztosítani kell a szimbionta gombát is, de nem csak a növény rövidtávú túlélése érdekében, hanem a további csírázások lehetőségének növelése miatt is.

A tőzegorchidea mikorrhiza partnere és élőhelyi csíráztatásának tapasztalatai

A csírázás mértéke igen alacsony, 0,8%-os volt. Ez az érték nagyságrendileg a hagymaburok *in situ* csíráztatásának eredményeként kapott, ugyancsak alacsony értékekkel összevethető, így feltételezhető, hogy a két faj esetében hasonló.

Az öt hónap alatt kialakult csíranövények némelyike már igen fejlett, több leveles egyed volt a diakeretek visszagyűjtésekor. Ezeken az apró növényeken már látszott a kifejlett tőzegorchideáknál ismert függőleges növekedés, mellyel az orchidea követi az állandóan növekvő tőzegmohák gyarapodását. Az alig fél éves csíranövényeken már az orchideáknál egyedülálló módon jelen levő, vegetatív szaporodást szolgáló bulbiluszok is megtalálhatók voltak a levelek csúcsain (23. ábra).

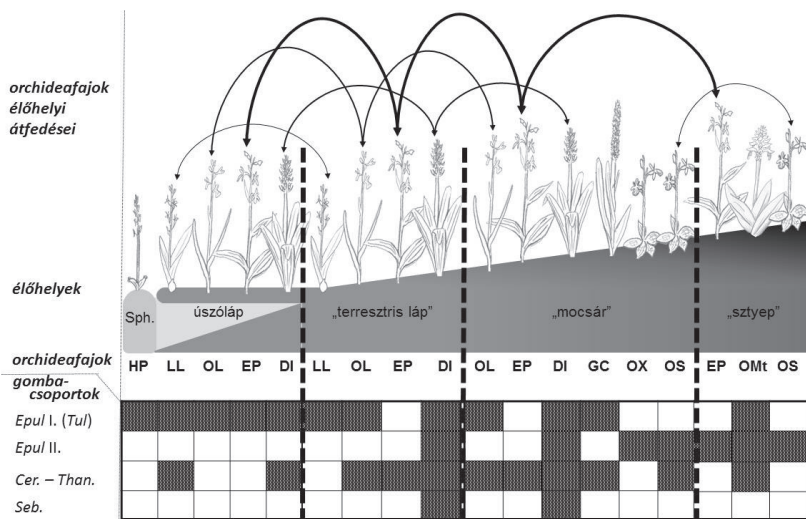


23. ábra: Bulbiluszok a tőzegorchidea csíranövényének levélvégein.

A folyamatosan növvő tőzegmohák párnái által kialakuló általában dagadó, vagy úszó lápok a faj csíranövényeit is a gyors fejlődésre, a felszínen maradásra készítetik, ami a gyors csírázásban és hajtásképzésben valósul meg. A tőzegorchidea csíranövényeiből izolált szimbionta gombája egy *Tulasnella* (anamorf nevén *Epulorhiza*) fajnak adódott. Érdekes tény, hogy az ugyancsak tőzegmohás élőhelyeken élő nem fotoszintetizáló májmoha, a *Cryptothallus mirabilis* szimbiontája ugyancsak *Tulasnella* faj. Utóbbi esetben a gomba a lápon élő közönséges nyír és fenyőfajok ektomikorrhizája is egyben, és kimutatták szerves anyagok áramlását a fától a mikoheterotróf moha felé (Bidartondo és mtsi 2003). Bár a két *Tulasnella* faj ITS szekvenciája igen eltérő (alig 60%-os a hasonlóságuk!), de az élőhelyi hasonlóság és a Bábtaván is nagy mennyiségben élő nyírfák, valamint az orchideafajok között egyre több esetben kimutatott fákkal való összeköttetés felveti, hogy a tőzegorchidea esetében is lehet hasonló mechanizmus.

A vizes élőhelyek orchidea-típusú mikorrhizát kialakító gombáinak diverzitása

A 94 vizsgált gombatörzs szekvenciái között a fotoszintetizáló orchideáknál általánosan elterjedt heterobazídiumos gombák csoportjait kaptuk meg, melyek a Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae és a Sebacinaceae (Rasmussen 2002, Dearnaley 2007) családokba tartoznak. Az egyes vizsgált élőhelyeken való megjelenésük azonban nem volt egyenlő mértékű (24. ábra).



24. ábra: A vizsgált vizes élőhelyek orchideafajai és a róluk izolált mikorrhiza-gomba csoportok megjelenései az egyes élőhelytípusokban. Az orchideafajok rövidítéseit ld. az „Anyagok és módszerek” fejezetben. További rövidítések: *Epul.* = *Epulorhiza*; *Tul.* = *Tulasnella*; *Cer.* = *Ceratobasidium*; *Than.* = *Thanatephorus*; *Seb.* = *Sebacina*; *Sph.* = *Shagnum*.

Epulorhiza-szerű gombacsoportok

Az úszólápi élőhelyek külön élőhelytípusként kezelését az indokolta, hogy bár az úszólápokon bármilyen láptípus kialakulhat (Balogh 2000), de mivel szinte folyamatos a tőzeg vízzel való átitatottsága, így ez a vízen úszó álszárzsföld mégis jelentősen eltér a teresztris láptípusoktól. Vizsgálataink alátámasztották az élőhely teresztris láptípusoktól való eltérését, ugyanis ezen az élőhelytípuson jóval alacsonyabb volt az orchideák szimbionta-gomba diverzitása a többi élőhelyhez képest (24-25. ábrák). Az ezeken az élőhelyeken csírázó orchideafajok kénytelenek ebből a kis kínálatból választani. Ez az élőhelyi specializálódás jelentősen befolyásolhatja az orchideák gombaspecifitásáról alkotott képet. Ugyanis, ha egy orchidea taxon bizonyos élőhelytípusokhoz kötődik, és ennek az élőhelytípusnak a potenciális orchidea-szimbionta spektruma alacsony, akkor a terepi vizsgálatok kevés gomba jelenlétét fogják mutatni az orchideából is, amiből helytelenül orchidea-gomba specifitásra gondolhatunk. Ez a helyzet a Magyarországon szinte kizárólag úszólápokon előforduló *Liparis loeselii* orchideafajjal is. A legtöbb esetben mind gyökeréből, mind csíranövényekből *Epulorhiza*-szerű (*Epulorhiza* 1a klád) gomba volt izolálható, mely a *Tulasnella calospora* ITS szekvenciáival igen nagy rokonságot mutatott. Közeli rokonánál, az ugyancsak fotoszintetizáló észak-amerikai *Liparis liliifolia*-nál egyetlen szimbionta gombafajt mutattak ki (McCormick és mtsi 2004), és ezt a két szervezet közti specifitással magyarázzák. Sőt, a McCormick és mtsi által kapott és *Tulasnella* fajként azonosított gomba szekvenciája (acc.nr. AY310910) nagyban hasonlít az általunk *L. loeselii*-ből izolált gombák szekvenciájához: ITS hasonlóság 91%, 5,8S hasonlóság 95%. Ebből akár arra is lehetne következtetni, hogy az általunk vizsgált *Liparis loeselii* esetében is specifikus a kapcsolat.

De az élőhelyek gombadiverzitásának összehasonlító elemzése óvatosságra int a fajspecifikusság kijelentésében, mivel úgy tűnik, hogy a hagymaburoknak nem nagyon van más lehetősége, mint az élőhelyén egyeduralkodó gombával kapcsolatba lépni, de ez még nem feltétlen jelent fajspecifikusságot. A szóban forgó gomba úszólápi dominanciáját (25. ábra) támasztja alá az az eredmény, hogy úszólápokon kívül teresztris élőhelyen is élő orchideafajok (*Dactylorhiza incarnata*, *Epipactis palustris*, *Orchis laxiflora* ssp. *palustris*) az úszólápon ugyancsak a *Liparis loeselii*-ben talált gombatípussal lépnek szimbiózisra, míg más élőhelyeiken más gombákkal is (24. ábra).

A *L. loeselii* ritkaságának vizsgálatakor a fajspecifikus szimbionta kapcsolat vizsgálata mellett fontos szempont a potenciális szimbionta gombapartnernek elterjedésének feltárása is. Ugyanis a megfelelő gombapartner hiánya bizonyos élőhelytípusokon fontos korlátozó tényező lehet a növény számára. Jóval több helyen találtunk a *L. loeselii* számára alkalmas,

Epulorhiza 1-es csoportba tartozó gombapartner, mint ahol ez az igen ritka orchidea előfordul, ugyanis nem csak úszólápokról került elő ez a gombatípus (24. ábra). Sőt, teresztris környezetben is kialakulhat a *L. loeselii* – *Epulorhiza*-la kapcsolat, ahogyan ezt a teresztris lápi (Ceska Lípa) élőhelyen tapasztaltuk. Az *Epulorhiza*-la gombák mellett kis számban izoláltunk a *L. loeselii* egyedeiből Ceratobasidiaceae családba tartozó szimbionta partnereket is. Ezek a gombák szintén előfordulnak teresztris élőhelyeken, *O. laxiflora* ssp. *palustris* szimbionta partnereiként. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a *Liparis loeselii* ritkaságát nem valószínű, hogy a gombapartnerének ritkasága okozza. Hasonló következtetésre jutottak Feuerherdt és mtsi (2005), akik az ugyancsak igen ritka *Arachnorchis behrii* gombapartneréről mutatták ki, hogy szélesebb körben elterjedt, mint az orchidea. Tehát a *L. loeselii* térségünkben mutatott úszólápi kötődése valószínűleg nem a szimbionta gombapartnernek hatására alakul ki, hanem egyéb tényezők miatt, pl. a hideg mikroklimához való ragaszkodás befolyásolhatja. Ugyanis Magyarország e faj elterjedésének déli peremén található, ezért szorulhat a faj a hideg mikroklimájú úszólápokra.

Érdekes eredmény az *Epulorhiza* 1a csoporton belül a *H. paludosa* szimbionta-gombáinak elkülönülése a többi szekvenciától (19. ábra). A *H. paludosa* alacsony pH-jú tőzegmohalápokon él, míg a többi *Epulorhiza*-1a minta főleg bázikus úszólápi és teresztris élőhelyekről származik. Nedvességbeli különbség az úszólápok és a tőzegmohaláp között nincsen, tehát nem ez okozza azt, hogy a két élőhelyen más ITS szekvenciájú gombák fordulnak elő. Az előbb említett kémhatásbeli különbség viszont magyarázhatja ezt, ugyanis az alacsony pH nagymértékű gombadiverzitás-csökkenést eredményezhet (Hadley 1970). A savas közeg valószínűleg az általunk vizsgált extrém vizes kitettségben is speciális körülményeket teremt a gombák számára. Így az orchidea-szimbionták taxonómiai különbsége párhuzamba állítható a bázikus és savanyú élőhelyek között markánsan megjelenő növényzeti különbségekkel.

Az úszólápokon a domináns *Epulorhiza* 1 csoporton kívül egy igen eltérő szekvenciájú, de szekvencia hasonlóságok alapján ugyancsak a Tulasnellaceae családba tartozó *Epulorhiza* 2 csoport is izolálható volt a kísérlet során. Ma és mtsi (2003) ugyancsak két nagyon eltérő szekvenciájú *Epulorhiza* csoportot mutattak ki trópusi orchideákból. Az ő két csoportjuk ITS szekvencia hasonlósága 18-44 % közötti volt. Az ő *Epulorhiza* 1 csoportjuk nagyon hasonlít a miénkhez (88-97% a teljes ITS régióban), ugyanakkor Ma és mtsi (2003) *Epulorhiza* 2 csoportja és a mi hasonló csoportunk között már nagyobb az eltérés, a legnagyobb hasonlóság 83% a páronkénti összehasonlításokban. Ma és mtsi (2003) a két eltérő szekvenciájú *Epulorhiza* anamorf csoportot két eltérő teleomorf nemzetségnek gondolják és a kettes

csoportjukat közelebbi rokonnak vélik a *Sebacina* taxonokhoz, mint a *Tulasnella* taxonokhoz, de felvetik csoportjaik Agaricales rokonságát is. Az *Epulorhiza* 2-es csoportunknak a Sebacinaceae csoporttal való rokonságát a mi vizsgálatunk is alátámasztja (19. ábra). A két *Epulorhiza*-szerű csoportunk Ma és mtsi (2003) Singapore-ban talált, trópusi orchideák gyökeréről izolált gombacsoportjaival való szekvenciariokonsága a két gombacsoport széles elterjedését tükrözi. Hasonló eredményre jutottak az *Epulorhiza* taxonokkal kapcsolatban Bonnardeaux és mtsi (2007) teresztris orchideák mikorrhizáit vizsgálva. Főleg a terjedőben levő orchideákról (pl. *Disa bracteata*) azonosított gombák között találták gyakran az *Epulorhiza* szekvenciákat. A nagy szekvencia variabilitást mutató *Epulorhiza* csoportjaik közül az egyik (acc. nr. EF176477) 94-98%-os hasonlóságot mutatott a mi *Epulorhiza* 1a kládunkkal. Egy másik csoportjuk pedig a mi *Epulorhiza* 1b kládunkhoz hasonló 94%-ban (acc. nr. EF176486). Vagyis Bonnardeaux és mtsi *Epulorhiza* csoportja a mi *Epulorhiza* 1-es csoportunkkal rokonítható. Ők ezt a gombacsoportot zavarástűrőként jellemzik, mivel sok bolygatott élőhelyről előkerültek. Ezzel egybecseng az az eredményünk, miszerint az *Epulorhiza* 1 csoport az általunk vizsgált élőhelyek mindegyikében megtalálható volt, ergo nem válogat az élőhelyek között, jól bírja a nem kiegyenlített vízellátottságú élőhelyeket (pl. szárazság, oxigénhiány), ugyanis úszólápokon a dominanciája megnő a többi gombacsoportéhoz képest. Érdekes azonban, hogy az *Epulorhiza* 2 csoport viszont inkább a száraz, vagy időszakosan kiszáradó élőhelyekről került elő, vagyis a vízzel való elárasztást valószínűleg nem bírja, ezzel szemben a szárazságot jól tűri (24. ábra). A szárazabb élőhelyen élő *Ophrys* fajoknál csak *Epulorhiza* 2 csoport gombatörzsei kerültek elő, ezeken belül is az „a” és a „b” kládok. Lehetséges, hogy itt sem specifikus kapcsolatról, hanem élőhelyi meghatározottságról van szó, ahogyan a *L. loeselii* esetében is feltételezzük.

Sebacinaceae csoport

A kis számban izolált Sebacinaceae csoporthoz tartozó gombatörzseink legközelebbi rokonának a *Sebacina vermifera* faj bizonyult. Hasonlósága a csoport tagjaihoz a teljes ITS régióban csupán 41-79%, de az 5,8 S génben igen magas (97-100%). *Sebacina* taxonok egy csoportját főleg nem fotoszintetizáló orchideákból (*Neottia nidus-avis* - McKendrick és mtsi 2002; *Hexalectris plicata* - Taylor és mtsi 2003; *Erythrorchis cassythoides* – Dearnaley 2006) mutatták ki. Selosse és mtsi (2004) kimutatták a *Sebacina* taxonok fás szárúakkal alkotott ektomikorrhiza kapcsolatát is. Ausztráliában a zavarástűrő és széles szimbiota spektrummal rendelkező, fotoszintetizáló *Microtis media* fajból is azonosítottak Sebacinaceae típusú gombát (Bonnardeaux és mtsi 2007). Érdekes párhuzam a mi kísérleteinkkel, hogy *Sebacina*-

szerű gombákat csak *D. incarnata* gyökeréből tudtunk kimutatni, mely a kísérletbe bevont orchideafajok közül vizes élőhelyeken igen elterjedt és egyben a legnagyobb szimbiota spektrummal rendelkezett (24. ábra). Lehet, hogy változatos élőhely-választáshoz, és széles körű elterjedéséhez ez is hozzájárul.

Bidartondo és mtsi (2004) már kimutattak az általunk is vizsgált *Epipactis palustris* gyökeréből is Sebacinaceae típusú gombát. Egy másik sebacinoid gombájuk, amelyet *Epipactis gigantea* gyökeréről izoláltak, nagyfokú hasonlóságot (99%) mutat az egyik *D. incarnata* gyökeréből izolált törzsünkkel (6. táblázat). Selosse és mtsi (2004) pedig *Epipactis microphylla* gyökeréből azonosítottak Sebacinaceae típusú gombákat, így feltételezhető, hogy további élőhelyek bevonásával *Epipactis palustris*-ből is kimutatható lenne *Sebacina*-szerű gomba nedves élőhelyekről. Az *Epipactis palustris* mintáinkból mindig csak az adott élőhely domináns gombacsoportjához tartozó törzseket izoláltuk, így a száraz élőhelyeken *Epulorhiza* 2, a nedves élőhelyeken Ceratobasidiaceae, míg az úszólápokon az *Epulorhiza* 1 csoport képviselőit. A Sebacinaceae csoport törzsei a változóan nedves és a vizes élőhelyekről kerültek elő, de az izolátumaink kis száma miatt nem nevezhetjük dominánsnak egyik élőhelyen sem. Valószínűleg emiatt nem találtuk az *Epipactis palustris* mintáinkban sem, főleg annak ismeretében, hogy az *Epipactis* taxonokhoz hasonló gyöktörzses fajok jóval kevesebb mikorrhizált gyökérrészt tartalmaznak, mint a gumós fajok, mint pl. a *Dactylorhiza* (Látr és mtsi 2008). Mivel nekünk is kevés gombát sikerült izolálni az *E. palustris* gyökereiből, így nem találtuk alkalmasnak az adott élőhelyek orchidea mikorrhiza-gomba diverzitásának reprezentálására. A *Dactylorhiza incarnata* jobb lehet erre a célra, mert a gombacsoportjaink szinte mindegyike kimutatható volt belőle, sőt olyan szimbiota gombákat is lehetett róla izolálni, amit más orchideafajból nem, pl. a Sebacinaceae csoport tagjait.

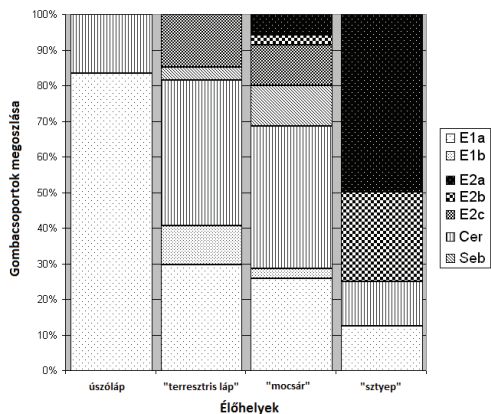
Ceratobasidiaceae csoport

Az ITS variabilitása a Ceratobasidiaceae csoportban kicsi (19. ábra). Feltűnő azonban, hogy a csoport tagjaihoz leginkább hasonló szekvenciák (6. táblázat) nagyon különböző izolátumokból származnak (talaj, burgonya, fenyő, orchideák gyökere), ami arra utal, hogy a család fajainak széles spektrumát sikerült izolálnunk. Sőt, a leginkább hasonló szekvenciák között két teleomorf nemzetség is képviselteti magát: a *Ceratobasidium* és a *Thanatephorus* (6. táblázat). Feltételezhetően az ITS variabilitása a rokon gombafajok közt kisebb ebben a rokonsági körben, mint a többi csoportunkban.

A csoport egésze nem mutatott erős élőhelyi preferenciát (24. ábra), és specifikus orchideafaj kötődést sem találtunk, melynek oka lehet a csoport már említett taxonómiai

heterogenitása. Érdemes kiemelni, hogy az úszólápon *Dactylorhiza incarnata* és *Liparis loeselii* egyedeiből is kimutatható Ceratobasidiaceae szekvenciák 100 %-os hasonlóságúak, vagyis feltételezhetően egy fajhoz tartoznak. De ahogyan az úszólápokon domináns *Epulorhiza* 1 csoport is megjelenik teresztris élőhelyeken, úgy ez a *Ceratobasidium*-szerű faj is kimutatható volt teresztris, nedves élőhelyeken *Orchis laxiflora* ssp. *palustris* gyökereiből, míg száraz élőhelyeken már nem. Bár a Ceratobasidiaceae csoport másik alcsoportja kimutatható szárazabb élőhelyről is, de általánosságban azt kaptuk, hogy az extrém nedves, illetve a kiszáradó élőhelyeken nem ők dominálnak.

Összességében elmondható, hogy az eltérő élőhelyek orchidea-szimbiota diverzitása igen változó lehet (25. ábra), ami az egyes potenciális szimbiota gombák élőhelyi igényeivel függhet össze. Mi az élőhelyek vízellátottságát állítottuk előtérbe, ami felhívja a figyelmet az élőhelyek szárazodásával járó változásokra. Emellett persze számos egyéb környezeti tényező is befolyásolhatja a talajok gombadiverzitását, így a talajok kémhatása is, amire mi is tudtunk példát szolgáltatni, de a szikesedés, a tápanyagok felhalmozódása mind-mind komoly átalakító hatással bírhatnak. Az egyes orchideafajok gombaszpecifikusságának vizsgálatával párhuzamosan az egyes gombacsoportok élőhelyi igényeinek megismerése, elterjedésének vizsgálata együttesen hozhat eredményt a természetvédelmi élőhely-rekonstrukciós, és aktív fajvédelmi programok kivitelezésében.



25. ábra: A molekuláris törzsfán elkülönített gombacsoportok egymáshoz viszonyított aránya a négy vizsgált élőhelytípuson. Seb = Sebacinaceae, Cer = Ceratobasidiaceae, E1 = *Epulorhiza* 1, E2 = *Epulorhiza* 2 (a, b és c az *Epulorhiza* csoportokon belüli kládokat jelöli)

Az eredmények összefoglalása, következtetések

Munkám általam legfontosabbnak tartott eredményeit az alábbi pontokban foglalom össze:

- A tőzegorchidea mikorrhiza-képző gombapartnere egy *Tulasnella* faj
- Az *in situ* csíráztatás módszere úszólápokon is sikeresen alkalmazható
- A hagymaburok a természetben igen alacsony (0,1-0,5%) arányban csírázik
- A hagymaburok magjai a faj élőhelyen fellelhető, kifejtett töveinek közelében jelentősen nagyobb arányban csíráznak, mint azoktól távol
- Az úszólápokon egy *Tulasnella* (anamorf nevén *Epulorhiza*) taxon dominanciája figyelhető meg, a szárazabb élőhelyeken pedig egy ettől rendszertanilag távol álló *Epulorhiza* csoport képviselői dominálnak
- A teresztris élőhelyeken az orchidea-mikorrhizát kialakító gombacsoportok nagyobb változatosságban jelennek meg, mint az úszólápokon
- A hagymaburok ritkasága és hazai előfordulásait figyelembe véve úszólápi élőhelyekhez való kötődése nem magyarázható a vele szimbiózisban élő gombacsoport kizárólagosan úszólápi megjelenésével

A „Célkitűzések” fejezetben munkám fő céljait három pontban jelöltem meg, ennek tükrében az alábbiakban részletezem röviden az elért eredményeket:

1. A hagymaburok életciklusának első, csírázás fázisáról korábban nem rendelkezünk terepi ismeretekkel. Munkám során sikeresen alkalmaztam az orchideáknál használt *in situ* csíráztatás módszerét, mely által sikerült megfigyelni a hagymaburok természetes élőhelyein végbemenő csírázási folyamatokat, és meghatározni a csírázás nagyságrendjét.
2. A ritka orchideák mikorrhiza-partnereinek vizsgálata természetvédelmi problémákat is felvet, miszerint a hagyományos gombaizolálási technikák az élő orchideatövek pusztulását okozzák. Ezzel szemben az élőhelyen csíráztatott magok vizsgálata nem veszélyezteti az orchidea természetes populációját. A mindössze néhány tíz egyedből álló hazai tőzegorchidea élőhelyen és két hagymaburok élőhelyen sikerült azonosítani az orchideafajok mikorrhiza-képző gombapartnereit az élőhelyen csíráztatott magok segítségével.

3. A vizes élőhelyek nemcsak hazánkban, de egész Európában egyre zsugorodó, veszélyeztetett élőhelyek. Sok értékes növény és állatközösségnek adnak otthont ezek az élőhelyek, melyek többek között igen értékes orchidea élőhelyek is. Az orchideafajok élőhelyekhez kötődését már régóta vizsgálják és erről igen pontos ismereteink vannak. A velük szimbiózisban élő gombafajok élőhelyi preferenciáiról, azok változatosságáról korábban nem álltak rendelkezésre adatok. Munkám során az úszólápi, tőzezlápi, teresztris lápi és mocsári élőhelytípusok, valamint a hozzájuk kapcsolódó szárazabb sztyeppi élőhelyek orchidea-szimbionta sokféleségét vizsgáltam. Eredményeim alapján az egyes élőhelytípusok gombavilága jól elkülönül, egyes gombacsoportok bizonyos élőhelyeken dominánssá válnak (*Tulasnella* – úszóláp, *Epulorhiza* II-es csoport száraz élőhelyek).

Összefoglalás

A vizes élőhelyek, és köztük is a lápok egyre fogyatkozó, igen sérülékeny élőhelyei nemcsak Magyarországnak, de egész Európának. Egyik különlegességük, és egyben talán legnagyobb értékeik is a rajtuk élő orchideafajok. A még nagy tömegben élő, gyakoribb fajok mellett lápi specialisták is élnek hazai lápjaikon. A hagymaburok (*Liparis loeselii*) és a tőzegorchidea (*Hammarbya paludosa*) fokozottan védett, lápi specialista orchideafajainkról még hiányosak az ismereteink. Mint minden orchideánál, így az említett két fajnál is kimutatták már az orchidea-típusú mikorrhizát képző gomba jelenlétét, de a tőzegorchidea esetében a gomba taxonómiai vizsgálata máig váratott magára. A hagymaburok esetében már történnek szimbionta gombafaj azonosítási munkák, de a faj életciklusában a csírázáskor betöltött szerepét, a csírázás nagyságrendjét még nem vizsgálták. Az említett fajokon túl sok orchideából mutattak már ki különböző mikorrhiza-képző gombafajokat, de a fotoszintetizáló orchideákra általában jellemző tág szimbionta specifikitás miatt a növény-gomba kapcsolatok spektrumát, és a gombák élőhelyi kötődéseit nem ismertük.

Munkám során a tőzegorchidea és a hagymaburok orchideák természetes élőhelyen történő, *in situ* csíráztatásával vizsgáltam azok természetes csírázási arányát, majd a fejlődő csíranövényekből (protokormok) kiindulva molekuláris taxonómiai módszerrel (ITS elemzés) azonosítottam szimbionta gombáikat. A különleges úszólápi, és ugyancsak extrém vizes tőzeglápi élőhelyeik potenciális orchidea mikorrhiza-kéző gomba-közösségeinek feltárása érdekében több egyéb orchideafajt is bevontam a vizsgálatokba, melyek segítségével meghatároztam három vizes élőhelytípus orchidea-szimbionta gombaközösségének faji összetételét és mennyiségi viszonyait.

A hagymaburok és a tőzegorchidea mikorrhizája a *Tulasnella* (anamorf néven *Epulorhiza*) nemzetség fajai, mely gombacsoport minden vizsgált élőhelytípuson kimutatható volt, de dominanciája az úszólápokon erősödött fel. Az úszólápokon és teresztris élőhelyeken egyaránt előforduló orchideafajok gyökeréből kitenyészített gombák vizsgálata rámutatott, hogy a többi potenciális orchidea-szimbionta (Ceratobasidiaceae, Sebacinaceae, és egy taxonómiaiilag előbbtől távoli *Epulorhiza* csoport) a teresztris láp és mocsár típusú élőhelyeken nagyobb diverzitással van jelen, mint az úszólápokon. Sőt a Ceratobasidiaceae egyes képviselőit kivéve az említett gombacsoportok nem is fordultak elő úszólápokon. A száraz élőhelyeken pedig az ugyancsak *Epulorhiza* típusú gombák egy, az úszólápi rokonaiktól igen eltérő ITS szekvenciájú csoportja került előtérbe.

Összességében elmondható, hogy a két vizsgált orchidea aktív fajvédelmét megalapozó, nélkülözhetetlen információkhoz jutottunk vizsgálataink által. A vizes élőhelyek orchidea-szimbionta közösségeinek ismerete a gyakorlati természetvédelem számára az orchideafajok védelmén túl az élőhelyek kezelésében, rehabilitációjában és fenntartásában nyújt segítséget.

Summary

In Hungary, as in the whole of Europe, wetlands, including marshes, are in decline and extremely vulnerable. One special feature of these habitats, and perhaps their greatest value, is the wide range of orchids that inhabit them. As well as common species that are still to be found in large numbers, wetland specialists also live in Hungarian marshes. Very little information is available on the fen orchid (*Liparis loeselii*) and the bog orchid (*Hammarbya paludosa*), both of which are strictly protected wetland specialists. As for all orchids, the presence of a fungus that forms an orchid mycorrhiza has been detected for both species, but in the case of the bog orchid the fungus has not yet been subjected to taxonomical analysis. The fungus species forming a symbiotic relationship with fen orchid has been identified, but neither the role it plays in the life cycle of the species at germination nor the germination ratio have yet been studied. In addition to these orchids, various mycorrhizal fungus species have been isolated from other orchids, but due to the broad symbiont specificity characteristic of photosynthesising orchids, neither the range of plant–fungus relationships nor the habitat requirements of the fungi are yet known.

In the course of the present work the natural germination ratio of fen and bog orchids was examined by means of *in situ* germination in the natural habitat, followed by the identification of the symbiotic fungi from the protocorms using a molecular taxonomic method (ITS analysis). In order to determine what mycorrhizal fungi could be potential symbionts for the orchids found in special, extremely wet habitats such as floating mat fens or peat bogs, a number of other orchid species were also included in the analysis, with the help of which it was possible to determine the species composition and frequency of orchid–fungus symbioses in three types of aqueous habitat.

The mycorrhiza of fen and bog orchids consisted of species from the *Tulasnella* (anamorph: *Epulorhiza*) genus, which could be detected in all the habitats investigated, but became increasingly dominant on floating mat fens. The analysis of fungal species isolated from the roots of orchids occurring both on floating mat fens and in terrestrial habitats revealed that the other potential orchid symbionts (Ceratobasidiaceae, Sebacinaceae and an

Epulorhiza group taxonomically distant from *Tulasnella*) exhibited greater diversity on terrestrial marsh and swamp habitats than on floating mat fens, and in fact only a few members of the Ceratobasidiaceae were to be found on the latter. In dry habitats, on the other hand, fungi of the *Epulorhiza* type had ITS sequences that differed greatly from those of related species on floating mat fens.

All in all it can be said that the research provided information that will be of vital importance for the active protection of the two orchid species investigated. Knowledge of the orchid–symbiont associations present in aquatic habitats will be of assistance to nature protection experts not only in the protection of the orchid species, but also in the management, rehabilitation and maintenance of their habitats.

Publikációs jegyzék

A témához kapcsolódó publikációk

Referált tudományos folyóiratokban megjelent dolgozatok:

- Illyés Z.**, Ouanphanivanh N., Rudnóy Sz., Orczán Á. K., Bratek Z. (2010): The most recent results on orchid mycorrhizal fungi in Hungary. *Acta Biologica Hungarica* 61 (Suppl.): 88-96. (impact factor 2009: 0,551)
- Illyés Z.**, Halász K., Rudnóy Sz., Ouanphanivanh N., Garay T., Bratek Z. (2009): Changes in the diversity of the mycorrhizal fungi of orchids as a function of the water supply of the habitat. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 83: 28-36. (impact factor 2009: 0,523)
- Bratek Z., **Illyés Z.**, Szegő D., Vértényi G. (2001): Az orchidea-típusú mikorrhiza képződésének és működésének egyes kérdései. *Botanikai Közlemények*. 88: 185-193.

Tudományos könyvek részletei:

- Illyés Z.**, Molnár V. A. (2011): Lápi hagymaburok – *Liparis loeselii* (L.) L.C.M. Richard 1817. In: Molnár V. A. (szerk.): Magyarország orchideáinak atlasza. Kossuth Kiadó, Budapest, pp. 279-281.
- Illyés Z.** (2011): Orchidea-típusú mikorrhiza. In: Molnár V. A. (szerk.): Magyarország orchideáinak atlasza. Kossuth Kiadó, Budapest. pp. 103-115.
- Illyés Z.** (2006): Az orchideák mikorrhizája. In: Ujhelyi P., Molnár V. A. (szerk.): Élővilág enciklopédia II. – A Kárpát-medence gombái és növényei. Kossuth Kiadó, Budapest, p. 153.
- Illyés Z.** (2006): A hagymaburok (*Liparis loeselii*). In: Ujhelyi P., Molnár V. A. (szerk.): Élővilág enciklopédia II. – A Kárpát-medence gombái és növényei. Kossuth Kiadó, Budapest, p. 166.

Teljes közlemények konferencia-kiadványok

- Illyés Z.**, Takács A. A., Takács G., Kiss P. (2007): Szempontok a *Liparis loeselii* magyarországi élőhelyeinek természetvédelmi szempontú kezeléséhez. III. Magyar Természetvédelmi Biológiai Konferencia, Eger, 2005. november 3-6., Természetvédelmi Közlemények 13: 403-410.

Illyés Z., Rudnóy Sz., Bratek Z. (2005): Aspects of *in situ*, *in vitro* germination and mycorrhizal partners of *Liparis loeselii*. Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis, 2005 august 22-25., Szeged, Acta Biologica Szegediensis 49: 137-139.

Kivonatok folyóiratokban, kongresszusi és konferencia kiadványokban

Illyés Z., Ouanphanivanh N., Jezovith G., Bratek Z. (2008): Orchideaszimbionta gombák azonosítása molekuláris taxonómiai módszerekkel. Molekuláris taxonómiai, filogenetikai és filogeográfiai kutatások Magyarországon, Szakmai találkozó, Diószegi Sámuel emlékére. 2007. november 17., Debrecen, Kitaibelia 13: 211.

Halász K., Geösel A., Lukács N., Bratek Z., **Illyés Z.** (2008): The use of symbiotic fungi to propagate Hungarian native orchids. First Symposium on Horticulture in Europe, 2008. february 17-20, Ausztria, Vienna, Book of Abstracts: p. 250.

Halász K., Geösel A., Lukács N., Bratek Z., **Illyés Z.** (2007): Applying symbiotic fungi to germinate Hungarian native orchids. 15th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, July 18-20, 2007. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. Abstracts. 54: 44.

Ouanphanivanh N., **Illyés Z.** (2006): Hazai orchidea fajok és szimbionta gombáik vizsgálata: fajspecifitás vagy élőhelyspecifitás. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1422. sz. ülés, 2006. december 4., Budapest, Botanikai Közlemények 93: 127.

Illyés Z., Garay T., Ouanphanivanh N., Bratek Z. (2006): Orchidea szimbionta gombák ökológiai diverzitása vizes élőhelyeken. 7. Magyar Ökológus Kongresszus, Budapest, 2006. szeptember 4-6, Előadások és poszterek összefoglalói: p. 91.

Illyés Z., Eszéki E., Ouanphanivanh N., Garay T., Halász K., Geösel A., Lukács N., Bratek Z. (2006): Conservation methods of Hungarian native orchids and identification of symbiotic mycorrhizal fungi. 1st European Congress of Conservation Biology, Eger, 2006. augusztus 22-26. Book of Abstracts: p. 119.

Illyés Z., Eszéki E., Rudnóy Sz., Szegő D., Bratek Z. (2005): *Ex-situ* conservation of *Liparis loeselii* (Orchidaceae) at Eötvös Loránd University, Hungary. XVII International Botanical Congress, Vienna, Austria Center, 17 - 23 July 2005., Abstracts: p. 607.

Illyés Z. (2005): Az orchideákat mikorrhizáló gombák különböző izolálási technikáinak alkalmazása a *Liparis loeselii* aktív védelmében. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1408. sz. ülés, 2005. április 18., Budapest, Botanikai Közlemények 92: 214.

- Illyés Z., Bratek Z., Balogh M. (2003):** Élettani vizsgálatok a *Liparis loeselii* védelméért. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1390. szakülés, 2003. április 7., Budapest, Botanikai Közlemények 90: 162-163.
- Illyés Z., Bratek Z., Balogh M. (2003):** *Liparis loeselii* szimbiotikus nevelése aktív védelme érdekében. 6. Magyar Ökológus Kongresszus, 2003. augusztus 27-29. Gödöllő, Előadások és Poszterek összefoglalói: p. 118.
- Illyés Z. (2003):** Egy lehetséges kísérleti módszer a *Liparis loeselii* aktív védelmében. IX. Nemzetközi Környezetvédelmi Szakmai Diákkonferencia. 2003. július 2-4., Mezőtúr, Összefoglalók: p. 23.
- Illyés Z. (2003):** A *Liparis loeselii* (L.) Rich mikroszaporításának lehetőségei. XXVI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia Biológia Szekció, Összefoglalók: p. 94.
- Bratek Z., Halász K., Szegő D., Illyés Z. (2002):** Mycorrhizal fungi from native orchids of Hungary. Második Magyar Mikológiai Konferencia, 2002. május 29-31. Szeged, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 49: 375.
- Illyés Z., Balogh M., Bratek Z. (2002):** A *Liparis loeseli* (L.) Rich. hazai előfordulásai és a mikroszaporítással történő állományerősítés lehetőségei. Aktuális flóra- és vegetációkutatás a Kárpát-medencében V. 2002. március 8-10. Pécs, Összefoglalók: p. 92.
- Illyés Z. (2002):** A *Liparis loeselii* (L.) Rich. hazai refúgiumai. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1382. szakülés, 2002. május 13., Fiala Botanikusok Előadói Versenye II., Budapest, Botanikai Közlemények 89: 230.

Népszerűsítő cikkek:

- Illyés Z. (2009):** Hazai orchidea fajok élőhelyválasztási stratégiái. Orchideák és Broméliák. Magyar Orchidea Társaság Lapja 2009/1: 11-15.
- Garay T., Illyés Z. (2008):** Hogy unokáink is láthassák. Orchideavédelem – a laborból. Élet és Tudomány 43: 1359-1361.

Tudományos intézetekben tartott szakmai előadások:

- Illyés Z., Ouanphanivanh N., Rudnóy Sz., Bratek Z. (2009):** Orchideaszimbionta gombák azonosítása molekuláris taxonómiai módszerekkel. 80 éves a Debreceni Egyetem Növénytani Tanszéke című konferencia, 2009. november 13-14., Debrecen
- Illyés Z., Ouanphanivanh N., Jezovith G., Bratek Z. (2007):** Orchideaszimbionta gombák azonosítása molekuláris taxonómiai módszerekkel. Molekuláris taxonómiai,

- filogenetikai és filogeográfiai kutatások Magyarországon, Szakmai találkozó, Diószegi Sámuel emlékére. 2007. november 17, Debrecen
- Ouanphanivanh N., **Illyés Z.** (2006): Hazai orchidea fajok és szimbiota gombáik vizsgálata: fajspecifitás vagy élőhelyspecifitás. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1422. szakülés, 2006. december 4., Budapest
- Illyés Z.** (2006): A Velencei-tó flórájának változásai. VII. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében, 2006. február 24-26., Debrecen
- Illyés Z.** (2005): A *Liparis loeselii* virágzásbiológiai vizsgálatai. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1414. szakülés, 2005. november 14., Budapest
- Illyés Z.**, Rudnóy Sz., Bratek Z. (2005): Orchidea-típusú mikorrhiza vizsgálatai *Liparis loeselii* hazai kosbor fajon: *in situ* és *in vitro* csíráztatás. VIII. Magyar Növényélettani Kongresszus és VI. Magyarországi Fotoszintézis Konferencia, 2005. augusztus 22-25., Szeged
- Illyés Z.** (2005): Az orchideákat mikorrhizáló gombák különböző izolálási technikáinak alkalmazása a *Liparis loeselii* aktív védelmében. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1408. szakülés, 2005. április 18., Budapest
- Illyés Z.** (2004): A velencei-tavi úszólápok botanikai felmérésének eredményei. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1405. szakülés, 2004. november 29., Budapest
- Illyés Z.**, Szegő D., Rudnóy Sz., Bratek Z. (2004): A *Liparis loeselii* egyes európai populációinak összehasonlító vizsgálata molekuláris markerekkel. Magyar Növényélettani Társaság, 2004. évi közgyűlés, 2004. május 13. Budapest
- Illyés Z.**, Szegő D., Rudnóy Sz. (2003): A hagymaburok (*Liparis loeselii*) hazai populációi az európai állományok tükrében. III. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium, 2003. október 28-30, Budapest
- Illyés Z.**, Bratek Z., Balogh M. (2003): *Liparis loeselii* szimbiotikus nevelése aktív védelme érdekében. 6. Magyar Ökológus Kongresszus, 2003. augusztus 27-29., Gödöllő
- Illyés Z.** (2003): Egy lehetséges kísérleti módszer a *Liparis loeselii* aktív védelmében. IX. Nemzetközi Környezetvédelmi Szakmai Diákkonferencia. 2003. július 2-4., Mezőtúr
- Illyés Z.** (2003): *Liparis loeselii* (L.) Rich mikroszaporításának lehetőségei. Magyar Biológiai Társaság, Környezet- és Természetvédelmi Szakosztály, „Fiatal kutatók a hazai konzervációbiológiában” című előadói ülés, 2003 április 24., Budapest

- Illyés Z.** (2003): *Liparis loeselii* (L.) Rich mikroszaporításának lehetőségei. XXVI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Biológia Szekció, Növényélettan Tagozat II. díj, 2003 április 17., Szeged
- Illyés Z., Bratek Z., Balogh M.** (2003): Élettani vizsgálatok a *Liparis loeselii* védelméért. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1390. szakülés, 2003 április 7., Budapest
- Illyés Z.** (2002): *Liparis loeselii* (L.) Rich. aszimbiotikus nevelése, ELTE Biológus Tudományos Diákköri Konferencia, Biokémia – Genetika – Növényélettan Szekció III. díj, 2002 november 30., Budapest
- Illyés Z.** (2002): A *Liparis loeselii* (L.) Rich hazai refúgiumai. Fiala Botanikusok Előadói Versenye III. díj (a Magyar Biológiai Társaság Botanikai Szakosztálya és a Magyar Tudományos Akadémia Botanikai Bizottsága szervezésében), 2002 május 13., Budapest
- Illyés Z.** (2001): Az Orchideák gombái. TIT Stúdió Egyesület, Gombász Szakcsoport, 2001 október 1., Budapest

Rádió, TV-szereplések:

- Megmentett orchideák a Kárpát medencében. Kossuth Rádió, Kék bolygó, 2003. november 04.
- Hagymaburok orchidea, Duna-völgyi csillagvirág kontra horgász-stégek és erdőirtás. A Ráckevei Duna botanikai értékei. Kossuth Rádió, Zöldövezet, 2008. február 27. (5 perc)

Egyéb média szereplés:

- Hazai orchideák megőrzése. Figyelő (Kutatás + Fejlesztés rovat), 2008. december 18-31., 51-52: 54.

Egyéb publikációk

Referált tudományos folyóiratokban megjelent dolgozatok:

- Illyés Z.** (2011): Orchidea adatok Szigetcsép környékéről. Kitaibelia 16: 95-96.
- Király G., **Illyés Z.** (2011): A *Liparis loeselii* (L.) Rich. előfordulása a Fertő-tó térségében. Kitaibelia 16: 89-94.
- Besnyői V., **Illyés Z.** (2010): A velencei-tavi füzes-nádas úszólápi élőhelyek összehasonlító vizsgálata. Botanikai Közlemények 97: 1-17.

- Gógán A. Cs., **Illyés Z.**, Dimény J., Merényi Zs., Bratek Z. (2009): *Choiromyces meandriformis* and *Mattirolomyces terfezioides*: peculiar truffles with new perspectives. *Micologia Italiana* 38: 21-30.
- Merényi Zs., Pintér Zs., Orczán Ákos K., **Illyés Z.**, Bratek Z. (2008): A Kárpát-medence föld alatti gombafajainak biogeográfiai és ökológiai kutatása számítógépes adatbázisok létrehozásával és integrálásával. *Mikológiai Közlemények, Clusiana* 47: 223-230.
- Ouanphanivanh N., Merényi Zs., Orczán Á. K., Bratek Z., Szigeti Z., **Illyés Z.** (2008): Could orchids indicate truffle habitats? Mycorrhizal association between orchids and truffles. *Acta Biologica Szegediensis* 52: 229-232.
- Ouanphanivanh N., **Illyés Z.**, Rundnóy Sz., Bratek Z. (2007): Hazai *Orchis militaris* élőhelyek orchidea-mikorrhiza gombáinak vizsgálata. *Tájökológiai Lapok* 5: 325-332.
- Sramkó G., Gulyás G., Matus G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Bratek Z., Molnár V. A. (2008): Leaf width, nrDNA and cpDNA ITS sequence variation within Central European *Bulbocodium vernum* and *B. versicolor* (Colchicaceae) populations: Are there really two taxa? *Acta Biologica Hungarica* 59: 103-114. (impact factor 2008: 0,619)
- Illyés Z.** (2006): A *Liparis loeselii* hazai elterjedése és érzékeny környezetváltást jelző velencei-tavi élőhelyének vegetáció-térképe. *Tájökológiai Lapok* 4:149-168.
- Illyés Z.**, Tóth B., Tóth E., Pétsch N., Németh Sz. (2006): Nagy murvalevelű *Liparis loeselii* egyedek a faj egy új hazai lelőhelyén, a Ráckevei- (Soroksári-) Duna-ágon. *Botanikai Közlemények* 93: 69-75.
- Illyés Z.**, Tóth E., Magos G., Tóth Z. (2006): Egy új akvárium növény, a *Myriophyllum brasiliense* Camb. megjelenése természetes vizeinkben. *Tájökológiai Lapok* 4: 317-325.
- Illyés Z.**, Tóth E. (2006): Új őszi füzértékercs (*Spiranthes spiralis* (L.) Chevall) előfordulás a Velencei-hegységben. *Kitaibelia* 10: 200.
- Gulyás G., Sramkó G., Molnár V. A., Rudnóy S., **Illyés Z.**, Balázs T., Bratek Z. (2005): Nuclear ribosomal DNS ITS paralogs as evidence of recent interspecific hybridisation in the genus *Ophrys* (*Orchideaceae*). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47: 61-67. (impact factor 2005: 0,368)
- Illyés Z.** (2004): Ritka sárma (*Ornithogalum*) alakok Budapest belterületén. *Kitaibelia* - apró közlemények 9: 223.
- Balogh M., Bratek Z., **Illyés Z.**, Zöld-Balogh Á. (2002): A *Liparis loeselii* (L.) Rich. tömeges előfordulása a Velencei-tavon. *Kitaibelia* 7: 247.

Tudományos könyvek részletei:

- Molnár V. A., **Illyés Z.** (2011): Ibolyás gérbics - *Limodorum abortivum* (L.) Sw. 1799. In: Molnár V. A. (szerk.): Magyarország orchideáinak atlasza. Kossuth Kiadó, Budapest. pp. 267–270.
- Illyés Z.** (2008): Velencei-medence. In: Király G., Molnár Zs., Bölöni J., Csíky J., Vojtkó A. (szerk.): Magyarország földrajzi kistájainak növényzete. MTA ÖBKI, Vácrátót, p. 28.
- Bratek Z., **Illyés Z.** (2006): Heterotróf növények. In: Ujhelyi P., Molnár V. A. (szerk.): Élővilág enciklopédia II. – A Kárpát-medence gombái és növényei. Kossuth Kiadó, Budapest, p. 155.

Teljes közlemények konferencia-kiadványok:

- Bratek Z., Merényi Zs., **Illyés Z.**, László P., Anton A., Papp L., Merkl O., Garay J., Vikor J., Brandt S. (2010): Studies on the ecophysiology of *Tuber aestivum* populations in the Carpatho-pannon region. Austrian Journal of Mycology 19: 221-226.
- Bratek Z., Merényi Zs., **Illyés Z.**, Völcz G., Tamaskó G., Orczán Á. K., Vikor J., Chevalier G. (2010): First results from experimental truffle-orchards established in Hungary in the framework of INRA-ELTE cooperation. Austrian Journal of Mycology 19: 231-237.
- Merényi Zs., **Illyés Z.**, Völcz G., Bratek Z. (2010): Creation database application for development on truffle cultivation methods. Austrian Journal of Mycology 19: 239-244.
- Illyés Z.**, Szegő D., Rudnóy Sz. (2003): A hagymaburok (*Liparis loeselii*) hazai populációi az európai állományok tükrében. III. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium, 2003. október 28-30, Budapest, Előadások összefoglalói: pp. 275-278.

Kivonatok folyóiratokban, kongresszusi és konferencia-kiadványokban:

- Ouanphanivanh N., **Illyés Z.**, Szigeti Z., Bratek Z. (2009): A Székesfehérvár-Sóstói felhagyott homokbányában élő orchideák szimbionta gombapartnereinek azonosítása. VIII. Magyar Ökológus Kongresszus 2009. augusztus 26-28. Szeged, Előadások és posztterek összefoglalói, p. 172.
- Gógán Cs. A., Bratek Z., **Illyés Z.**, Dimény J. (2008): Studies on *Tuber macrosporum* natural truffle habitats in the Carpatho-Pannon region. 3^o Congresso Internazionale di Spoleto sul Tartufo. 25th – 28th November, 2008, Spoleto, Abstracts, p. 29.
- Gógán Cs. A., Bratek Z., Merényi Zs., **Illyés Z.**, Dimény J. (2008): *Choiromyces meandriformis* and *Mattirolomyces terfezioides*: peculiar truffles with new perspectives.

- XVII Convegno Nazionale di Micologia, 10th-12th November, 2008, Pavia, Abstracts, p. 36.
- Drescher B., **Illyés Z.**, Vikor J., Bratek Z. (2008): Ecological research basing sweet truffle (*Mattirolomyces terfezioides* /Mattir./ E. Fischer) cultivation. Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. 29th September – 3rd October, 2008, Bonn, Program and Abstracts, pp. 72-73.
- Illyés Z.**, Drescher B., Vikor J., Bratek Z. (2008): New phytoindication based predictional method for better selection of burgundy truffle plantation sites and host plants. Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. 29th September – 3rd October, 2008, Bonn, Program and Abstracts, p. 73.
- Sramkó G., Gulyás G., Matus G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Bratek Z., Molnár V. A. (2008): Levélszélesség, nrDNS és kpDNS ITS szekvenciaváltozatosság közép-európai egyhajúvirág populációkban: valóban két taxon van? Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében VIII. Országos Konferencia, 2008. február 29.-március 2., Gödöllő, Abstracts 13: 131.
- Szeglet P., Szabó I., Dömötörfy Zs., **Illyés Z.** (2006): Térinformatika a vegetációkutatásban - Velencei-tó. 7. Magyar Ökológus Kongresszus, Budapest, 2006. szeptember 4-6, Előadások és poszterek összefoglalói, p. 196.
- Sramkó G., Gulyás G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Péntes Zs., Molnár V. A. (2006): Fő leszármazási vonalak az *Ophrys fuciflora* fajkomplexben (*Orchidaceae*) az nrDNS ITS régió szekvencia változatossága alapján (Main phylogenetical lineages within the *Ophrys fuciflora* species-complex (*Orchidaceae*) as inferred from nrITS sequence variation). VII. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében, Debrecen, 2006. február 24-26. Kitaibelia 11: 27.
- Illyés Z.** (2006): A Velencei-tó flórájának változásai. VII. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében (Change of flora on Lake Velence (Central Hungary)), Debrecen, 2006. február 24-26. Kitaibelia 11: 8.
- Illyés Z.** (2005): A hagymaburok (*Liparis loeselii*) virágzásbiológiai vizsgálatai. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1414. szakülés, 2005. november 14., Budapest, Botanikai Közlemények 92: 225.
- Sramkó G., Gulyás G., Molnár V. A., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Bratek Z. (2005): Phylogeographical observations on species complex *Ophrys fuciflora* inferred from nuclear ribosomal ITS sequences. XVII International Botanical Congress, Vienna, Austria Center , 17 - 23 July 2005., Abstracts, p. 367.

- Illyés Z.** (2004): A velencei-tavi úszólápok botanikai felmérésének eredményei. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1405. szakülés, 2004. november 29., Budapest, Botanikai Közlemények 91: 149.
- Molnár V. A., Gulyás G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Bratek Z. (2004): Az *Ophrys fuciflora* agg. DNS-alapú vizsgálata. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében VI., 2004. február 26-29. Keszthely, Előadások és Poszterek, Összefoglaló kötet, p. 7.
- Penksha K., Galli Zs., **Illyés Z.**, Rudnóy Sz., Bauer L., Bucherna N., Kiss E., Bratek Z., Heszy L. E. (2003): Adatok a *Festuca ovina* csoportba tartozó fajok taxonómiai revíziójához. 6. Magyar Ökológus Kongresszus, 2003. augusztus 27-29. Gödöllő, Előadások és Poszterek összefoglalói, p. 216.

Tudományos intézetekben tartott szakmai előadások:

- Ouanphanivanh N., Illyés Z., Szigeti Z. (2010): Egyes hazai homok- és szénbányákban élő orchideák gombapartnereinek azonosítása molekuláris biológiai módszerekkel. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1440. szakülés, 2010. április 26., Budapest
- Bratek Z., Merényi Zs., **Illyés Z.**, Völcz G., Tamaskó G., Orczán Á.K., Viktor J., Chevalier G. (2009): First results of studies in experimental truffle-orchards established in INRA-ELTE cooperation in Hungary. First Conference on the “European” Truffle *Tuber aestivum/uncinatum*, 6th – 8th November 2009, Vienna
- Bratek Z., Merényi Zs., **Illyés Z.**, László P., Attila A., Papp L., Merkl O., Garay J., Viktor J., Brandt S. (2009): Studies on ecophysiology of *Tuber aestivum* populations in Carpatho-pannon region. First Conference on the “European” Truffle *Tuber aestivum/uncinatum*, 6th – 8th November 2009, Vienna
- Gógán A. Cs., Bratek Z., **Illyés Z.**, Dimény J. (2008): Studies on *Tuber macrosporum* natural truffle habitats in the Carpatho-Pannon region. 3^o Congresso Internazionale di Spoleto sul Tartufo. 25th – 28th November, 2008, Spoleto
- Gógán A. Cs., Bratek Z., Merényi Zs., **Illyés Z.**, Dimény J. (2008): *Choiromyces meandriformis* and *Mattirolomyces terfezioides*: peculiar truffles with new perspectives. XVII Convegno Nazionale di Micologia, 10th-12th November, 2008, Pavia
- Drescher B., **Illyés Z.**, Viktor J., Bratek Z. (2008): Ecological research basing sweet truffle (*Mattirolomyces terfezioides* /Mattir./ E. Fischer) cultivation. Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. 29th September – 3rd October, 2008, Bonn

- Illyés Z.**, Drescher B., Vikor J., Bratek Z. (2008): New phytoindication based predictional method for better selection of burgundy truffle plantation sites and host plants. Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. 29th September – 3rd October, 2008, Bonn
- Szeglet P., Szabó I., Dömötörfy Zs., **Illyés Z.** (2006): Térinformatika a vegetációkutatásban - Velencei-tó. 7. Magyar Ökológus Kongresszus, 2006. szeptember 4-6., Budapest
- Sramkó G., Gulyás G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Péntes Zs., Molnár V. A. (2006): Fő leszármazási vonalak az *Ophrys fuciflora* fajkomplexben (*Orchidaceae*) az nrITS régió szekvencia változatossága alapján. VII. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében, 2006. február 24-26., Debrecen
- Molnár V. A., Gulyás G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Bratek Z. (2004): Az *Ophrys fuciflora* agg. DNS-alapú vizsgálata. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében VI., 2004. február 26-29. Keszthely
- Illyés Z.** (2003): Képek Skandináviából egy botanikus szemével. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1394. szakülés, 2003. november 24., Budapest
- Penkza K., Galli Zs., **Illyés Z.**, Rudnóy Sz., Bauer L., Bucherna N., Kiss E., Bratek Z., Heszy L. E. (2003): Adatok a *Festuca ovina* csoportba tartozó fajok taxonómiai revíziójához. 6. Magyar Ökológus Kongresszus, 2003. augusztus 27-29., Gödöllő
- Penkza K., Galli Zs., Bauer L., Kiss E., Bucherna N., **Illyés Z.**, Rudnóy Sz., Bratek Z., Heszy L. (2003): A Kárpát-medence *Festuca ovina* csoportjának újabb taxonómiai eredményei. Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1388. szakülés, 2003. március 10., Budapest
- Sramkó G., Gulyás G., Matus G., Rudnóy Sz., **Illyés Z.**, Bratek Z., Molnár V. A. (2008): Levélszélesség, nrDNS és kpDNS ITS szekvenciaváltozatosság közép-európai egyhajúvirág populációkban: valóban két taxon van? Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében VIII. Országos Konferencia, 2008. február 29.-március 2., Gödöllő
- Bratek Z., **Illyés Z.**, Merényi Zs., Anton A., Kamoncz I., Vikor J. (2008): Összehasonlító elemzések a hazai szarvasgomba-ültetvényeken. Triflatermesztés Napja. Szekszárd, 2008. április 19.

Rádió, TV-szereplések:

- Lehet-e a természet állami gondozott. Az István-kúti Nyírjes rehabilitációja a Zemplénben. Kossuth Rádió, Oxigén, 2003. október 18.

Orchideák és szarvasgombák kapcsolata. Kossuth Rádió, Oxigén, 2008. június 15.

A Velencei-tó partjára tervezett kaszinóváros természeti kárai. Kossuth Rádió, Zöldövezet, 2009. április 14.

Újabb csata Pákozdnál. Megakaszinóvárost akarnak építeni a Velencei-tó védett partszakaszán. Kossuth Rádió, Oxigén, 2009. április 19.

Egyéb média szereplés:

Ami elpusztulna Sukorón. Greenfo (www.greenfo.hu), Hírek, 2009. április 14.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, dr. Bratek Zoltánnak a mindenben támogató és türelmes szakmai vezetését.

Köszönöm prof. dr. Szigeti Zoltánnak, a Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék, valamint a Kísérletes Növénybiológiai Doktori Program vezetőjének, hogy lehetővé tette számomra a munkát az általa vezetett tanszéken és doktori programban.

Nagyon köszönöm dr. Rudnóy Szabolcsnak és dr. Halász Krisztiánnak a rengeteg türelmet és segítséget, mellyel elindítottak és végig kísérték munkáim tervezésekor és végrehajtásakor is.

Köszönöm Eszéki Eszternek, Orczán Ákos Kund, Ouanphanivanh Noéminek és Garay Tamásnak a mindig vidám és lelkes közös munkákat.

Köszönet dr. Balogh Mártonnak, Kiss Péternek, dr. Sramkó Gábornak, Takács Gábornak és Tóth Balázsnak, akik nélkülözhetetlen segítséget jelentettek számomra a munkám során igen nagy jelentőséggel bíró terepi feladatok elvégzésében.

Köszönöm a Duna-Ipoly Nemzeti Park anyagi támogatását.

Irodalomjegyzék

- Albert L., Zöld-Balogh Á., Babos M., Bratek Z. (2004): A Kárpát-medence úszólápjainak jellemző kalapos gombái. Mikológiai Közlemények, Clusiana 43: 61-74.
- Altschul S. F., Madden T. L., Schäffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D. J. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research 25: 3389-3402.
- Andersen T. F. (1996): A comparative taxonomic study of *Rhizoctonia* sensu lato employing morphological, ultrastructural and molecular methods. Mycological Research 100: 1117-1128.
- Andronova E. V. (1997): Embryogenesis in Orchidaceae. In: Batygina T. B. (szerk): Embryology of Flowering plants. Terminology and Concepts. V 2. Seed. St. Petersburg, pp. 544-556.
- Arditti J. (1992): Fundamentals of orchid biology. John Wiley, New York, New York, USA pp. 691.
- Balogh M. (1969): A *Liparis loeselii* (L.) Rich. a Velencei-tavon. Botanikai Közlemények 56: 17-19.
- Balogh M. (2000): Az úszóláp-szukcesszió kérdései I. Kitaibelia 5: 9-16.
- Balogh M., Bratek Z., Illyés Z., Zöld-Balogh Á. (2002): A *Liparis loeselii* (L.) Rich. tömeges előfordulása a Velencei-tavon. Kitaibelia 7: 247.
- Balogh M., Patkó Á., Vari L. (1980): An interesting *Liparis* presence and its ecological significance on Lake Velence/Hungary. Annales Universitatis Scientiarum Budapestiensis de Rolando Eötvös nominatae, Sectio Biologica 22-23: 49-55.
- Barina Z. (2000): Felhagyott homokbányák florisztikai vizsgálata I. Kitaibelia 5: 313-318.
- Barina Z. (2006): A Gerecse hegység flórájának katalógusa. Flora of the Gerecse Mountains. Duna-Ipoly Nemzeti Park, Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, pp. 612.
- Bernard N. (1904): Recherches expérimentales sur les orchidées. I-III. Methodes de culture; champignon endophyte; la germination des orchidees. Revue Generale de Botanique 16: 405-451.
- Bidartondo M. I., Bruns T. D., Weiss M., Sergio C., Read D. J. (2003): Specialised cheating of the ectomycorrhizal symbiosis by an epiparasitic liverwort. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences 270: 835-842.
- Bidartondo M. I., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T. D., Read D. J. (2004): Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons

between forest orchids and trees. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 271: 1799-1806.

- Bonnardeaux Y., Brundrett M., Batty A., Dixon K., Koch J., Sivasithamparam K. (2007): Diversity of mycorrhizal fungi of terrestrial orchids: compability webs, brief encounters, lasting relationships and alien invasions. *Mycological Research* 111: 51-61.
- Borbás V. (1879): Budapestnek és környékének növényzete. Magy. Kir. Egyetemi Könyvnyomda, Budapest, pp. 175.
- Borhidi A. (1995): Social behaviour types, the naturalness and relative ecological indicator values of the higher plants in the Hungarian Flora. *Acta Botanica Hungarica* 39: 97-181.
- Borhidi A. (1997): Tavak zárt nádasai és gyékényesei. In: Fekete G., Molnár Zs., Horváth F. (szerk.): Nemzeti Biodiverzitás-Monitorozó Rendszer II. A magyarországi élőhelyek leírása, határokozója és a Nemzeti Élőhely-osztályozási Rendszer. MTM, Budapest, pp. 61-64.
- Bratek Z., Zöld-Balogh Á. (2002): Diszkomicéták hazai úszólápokról. *Mikológiai Közlemények, Clusiana* 41: 53-62.
- Burgeff H. (1936): Samenkeimung der Orchideen. Gustav Fischer Verlag, Jena, pp. 312.
- Cameron D. D., Leake J. R., Read D. J. (2006): Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist* 171: 405-416.
- Catling P. M. (1980): Rain-assisted autogamy in *Liparis loeselii* (L.) L. C. Rich. (Orchidaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 107: 525-529.
- Chung M. Y., Nason J. D., Chung M. G. (2004): Spatial genetic structure in populations of the terrestrial orchid *Cephalanthera longibracteata* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 91: 52-57.
- Clements M. A. (1988): Orchid mycorrhizal associations. *Lindleyana* 3: 73-86.
- Currah R. S., Zettler L. W., Mcinnis T. M. (1997): *Epulorhiza inquilina* sp. nov. from *Platanthera* (Orchidaceae) and a key to *Epulorhiza* species. *Mycotaxon* 61: 335-342.
- Curtis J. T. (1939): The relation of specificity of orchid mycorrhizal fungi to the problem of symbiosis. *American Journal of Botany* 26: 390-398.
- Davies P., Davies J., Huxley A. (1988): Wild Orchids of Britain and Europe. The Hogarth Press, London, pp. 256.
- Dearnaley J. D. W. (2006): The fungal endophytes of *Erythorchis cassythoides* – is this orchid saprophytic or parasitic? *Australasian Mycologist* 25: 51-57.

- Dearnaley J. D. W. (2007): Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza* 17: 475-486.
- Doyle J. J., Doyle J. L. (1987): A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Fekete G., Varga Z. S. (2003): Élőhelytípusok Magyarországon. In: Láng I., Bedő Z., Cséte L. (szerk.): Magyar Tudománytár 3. Növény, állat, élőhely. Kossuth Kiadó, Budapest, pp. 128-223.
- Feuerherdt L., Petit S., Jusaitis M. (2005): Distribution of mycorrhizal fungus associated with the endangered pink-lipped spider orchid (*Arachnorchis* (syn. *Caladenia behrii*) at Warren Conservation Park in South Australia. *New Zealand Journal of Botany* 43: 367-371.
- Frank N., Király G. (1997): Flórakutatás a hazai Laitaicumban. *Kitaibelia* 2: 213-216.
- Frøslev T. G., Jeppesen T. S., Laessle T., Kjølner R. (2007): Molecular phylogenetics and delimitation of species in *Cortinari* section *Calochroi* (Basidiomycota, Agaricales) in Europe. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 217-227.
- Girlanda M., Selosse M. A., Cafasso D., Brilli F., Delfino S., Fabbian R., Ghignone S., Pinelli P., Segreto R., Loreto F., Cozzolino S., Perotto S. (2006): Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae. *Molecular Ecology* 15: 491-504.
- Hadley G. (1970): Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza. *New Phytologist* 69: 1015-1023.
- Hadley G., Williamson B. (1971): Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza. *New Phytologist* 70: 445-455.
- Henrich J. E., Stimart D. P., Ascher P. D. (1981): Terrestrial orchid seed germination *in vitro* on a defined medium. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 106: 193-196.
- Hultén E., Fries M. (1986): Atlas of North European Vascular plants north of the tropic of Cancer. 3 Bd. Koeltz, Königstein, pp. 1172.
- Illyés Z. (2003): A *Liparis loeselii* aktív védelmét célzó aszimbiotikus és szimbiotikus nevelése és szimbiota gombapartnereinek molekuláris azonosítása. Diplomamunka. Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, kézirat, pp. 62.
- Illyés Z. (2005): „A 2005. évi *Liparis loeselii* állománymonitoring és védett fajok előfordulásának pontszerű térképezése. A nádasmonitoring keretén belül a különböző kezelési foltok cönológiai mintavételezése a tápanyagszükséglet lehetséges módosításainak leírása. A *Liparis loeselii* mesterséges szaporulat kiültetési kísérletei. A Velencei-tó vízgyűjtőjének élőhelytérképezése különös

- tekintettel a vízfolyások közvetlen környékére” c. tanulmány a Duna-Ipoly Nemzeti Park számára. Budapest, kézirat, pp. 79.
- Illyés Z. (2006): A *Liparis loeselii* hazai elterjedése és érzékeny környezetváltást jelző velencei-tavi élőhelyének vegetáció-térképe. Tájökológiai Lapok 4:149-168.
- Illyés Z. (2007): „A 2007. évi *Liparis loeselii* állománymonitoring” c. tanulmány a Duna-Ipoly Nemzeti Park számára. Budapest, kézirat, pp. 23.
- Illyés Z., Molnár V. A. (2011): Lápi hagymaburok – *Liparis loeselii* (L.) L.C.M. Richard 1817. In: Molnár V. A. (szerk.): Magyarország orchideáinak atlasza. Kossuth Kiadó, Budapest, pp. 279-281.
- Illyés Z., Rudnóy Sz., Bratek Z. (2005): Aspects of *in situ*, *in vitro* germination and mycorrhizal partners of *Liparis loeselii*. Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis, 2005 august 22-25., Szeged, Acta Biologica Szegediensis 49: 137-139.
- Illyés Z., Tóth B., Tóth E., Pétsch N., Németh Sz. (2006): Nagy murvalevelű *Liparis loeselii* egyedek a faj egy új hazai lelőhelyén, a Ráckevei- (Soroksári-) Duna-ágon. Botanikai Közlemények 93: 69-75.
- Irwin M. J., Bougoure J. J., Dearnaley J. D. W. (2007): *Pterostylis nutans* (Orchidaceae) has a specific association with two *Ceratobasidium* root-associated fungi across its range in eastern Australia. Mycoscience 48: 231-239.
- Ježek Z. (2005): Encyklopedie orchidejí (magyar), Orchideák enciklopédiája [ford. Illés Beatrix]. Ventus Libro, Budapest, pp. 304.
- Jones P. S. (1998): Aspects of the population biology of *Liparis loeselii* (L.) Rich. var. *ovata* Ridd. ex Godfrey (Orchidaceae) in the dune slacks of South Wales, UK. Botanical Journal of Linnean Society 126: 123-139.
- Keller G., Schlechter R., Soó R. (1930-40, rep. 1972): Monographie und Iconographie der Orchideen Europas und des Mittelmeergebietes. II. Koeltz, Koenigstein, pp. 788.
- Kirchner O. (1922): Zur Selbstbestäubung der Orchidaceen. Berichten der Deutschen Botanischen Gessellschaft 40: 317-321.
- Kottke I., Suárez J. P., Herrera P., Cruz D., Bauer R., Haug I., Garnica S. (2010): Atractiellomycetes belonging to the ‘rust’ lineage (Pucciniomycotina) form mycorrhizae with terrestrial and epiphytic neotropical orchids. Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences 277: 1289-1298.
- Kristiansen K. A., Taylor D. L., Kjølner R., Rasmussen H. N., Rosendahl S. (2001): Identification of mycorrhizal fungi from single pelotons of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) using single strand conformation polymorphism and mitochondrial ribosomal large subunit DNA sequences. Molecular Ecology 10: 2089-2093.

- Kröel-Dulay Gy., Barabás S., Rédei T., Szurdoki E. (1995): Új orchideafaj hazánk flórájában, a tőzegorchidea (*Hammarbya paludosa* (L.) O. Kuntze). Botanikai Közlemények 82: 35-38.
- Künkele S., Baumann H. (1998): *Liparis loeselii* (L.) Rich. 1817. In: Sebald O., Seybold S., Philippi G., Wörz A. (szerk.): Die Farn und Blütenpflanzen Baden- Württembergs. Bd. 8. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 424-426.
- Látr A., Čuříková M., Baláz M., Jurčák J. (2008): Mycorrhizas of *Cephalanthera longifolia* and *Dactylorhiza majalis*, two terrestrial orchids. Annales Botanici Fennici 45: 281-289.
- Leake J. R. (1994): The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. Tansley Review No. 69. New Phytologist 127: 171-216.
- Ma M., Tan T. K., Wong S. M. (2003): Identification and molecular phylogeny of *Epulorhiza* isolates from tropical orchids. Mycological Research 107: 1041-1049.
- Markus N., Thormann M. N., Rice A. V. (2007): Fungi from peatlands. Fungal Diversity 24: 241-299.
- Masuhara G., Katsuya K. (1994): *In situ* and *in vitro* specificity between *Rhizoctonia* spp. and *Spiranthes sinensis* (Persoon) Ames. var. *amoena* (M. Bieberstein) Hara (Orchidaceae). New Phytologist 127: 711-718.
- McCormick M. K., Whigham D. F., O'Neill J. (2004): Mycorrhizal diversity in photosynthetic terrestrial orchids. New Phytologist 163: 425-438.
- McKendrick S. L., Leake J. R., Taylor D. L., Read D. J. (2002): Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. New Phytologist 154: 233-247.
- McMaster R. T. (2001): The population biology of *Liparis loeselii*, Loesel's twayblade, in a Massachusetts wetland. Northeastern Naturalist 8: 163-178.
- Molnár V. A., (1999a): *Hammarbya paludosa* (L.) O. Kuntze. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország Védett Növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 323.
- Molnár V. A. (1999b): *Liparis loeselii* (L.) Rich. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 323.
- Molnár V. A. (1999c): *Orchis militaris* L. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 309.
- Molnár V. A. (2003): Egyszikűek. Orchideák, nőszirmok, liliomok és rokonaik a Kárpát-medencében. ÉlőVilág Könyvtár, Kossuth Kiadó, Budapest, pp. 112.
- Molnár V. A. (2006): Kosborfélék – Orchidaceae. In: Ujhelyi P., Molnár V. A. (szerk.): Élővilág enciklopédia II. – A Kárpát-medence gombái és növényei. Kossuth Kiadó, Budapest, pp. 149-166.

- Molnár V. A., Óvári M., Sramkó G. (2011): A Magyarországon előforduló orchideák osztályozása és nevezéktana. In: Molnár V. A. (szerk.): Magyarország orchideáinak atlasza. Kossuth Kiadó, Budapest. pp. 42-45.
- Molnár A., Sulyok J., Vidéki R. (1994): A vajai víztározó vegetációja és botanikai értékei. – Dolgozat a KTM Természetvédelmi Hivatal „A természetvédelmi oltalom alatt nem álló területek természeti értékeinek feltárása és megóvása” című pályázatára. kézirat, Debrecen, pp. 18.
- Molnár A., Sulyok J., Vidéki R. (1995): Vadon élő orchideák. Kossuth Könyvkiadó, Budapest, pp. 160.
- Mrkvička A. Ch. (1990): Neue Beobachtungen zu Samenkeimung und Entwicklung von *Liparis loeselii* (L.) Rich. Mitteilungsblatt – Arbeitskreis „Heimische Orchideen” Baden-Württemberg 22: 172-180.
- Nash N., La Croix I. (consultants), Banks D. (writer) (2005): *Flora's Orchids*. Timber Press, Portland, pp. 368.
- Neubert K., Mendgen K., Brinkmann H., Wirsig S. G. R. (2006): Only a few fungal species dominate highly diverse mycofloras associated with the common reed. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 1118-1128.
- Ouanphanivanh N., Merényi Zs., Orcsán Á. K., Bratek Z., Szigei Z., Illyés Z. (2008): Could orchids indicate truffle habitats? Mycorrhizal association between orchids and truffles. *Acta Biologica Szegediensis* 52: 229-232.
- Parádi I., Bratek Z., Bóka K., Zimányi Zs., Sárvári É., Böddi B., Szigei Z., Láng F. (2000): Structural and functional studies on the photosynthetic apparatus of two partially autotrophic orchids. *Plant Physiology and Biochemistry* 38 (Suppl.): 118.
- Peterson R. L., Currah R. S. (1990): Synthesis of mycorrhizae between protocorms of *Goodyera repens* (Orchidaceae) and *Ceratobasidium cereale*. *Canadian Journal of Botany* 68: 1117-1125.
- Ramírez S. R., Gravendeel B., Singer R. B., Marshall C. R., Pierce N. E. (2007): Dating the origin of the Orchidaceae from a fossil orchid with its pollinator. *Nature* 448: 1042-1045.
- Rasmussen H. N. (1995): *Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 332.
- Rasmussen H. N. (2002): Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant Soil* 244: 149-163.
- Rasmussen H. N., Andersen T. F., Johansen B. (1990): Temperature sensitivity of in vitro germination and seedling development of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) with and without a mycorrhizal fungus. *Plant, Cell and Environment* 13: 171-177.

- Rasmussen H. N., Whigham. D. F. (1993): Seed ecology of dust seeds *in situ*: A new study technique and its application in terrestrial ecology. *American Journal of Botany* 80: 1374-1378.
- Reszler G. (1997): Hagymaburok (*Liparis loeselii* (L.) Rich.) a Soroksári Dunán. *Kitaibelia* 2: 147.
- Richardson K. A., Currah R. S., Hambleton S. (1993): Basidiomycetous endophytes from the roots of neotropical epiphytic Orchidaceae. *Lindleyana* 8: 127-137.
- Rolfsmeyer S. B. (2007): *Liparis loeselii* (L.) Rich. (yellow widelip orchid): a technical conservation assessment. USDA Forest Service, Rocky Mountain Region. Elérhető: <http://www.fs.fed.us/r2/projects/scp/assessments/liparisloeselii.pdf>
- Roy M., Yagame T., Yamato M., Iwase K., Heinz C., Faccio A., Bonfante P., Selosse M. A. (2009): Ectomycorrhizal *Inocybe* species associate with the mycoheterotrophic orchid *Epipogium aphyllum* but not with its asexual propagules. *Annals of Botany* 104: 595-610.
- Ruinen J. (1953): Epiphytosis. A second review on epiphytism. *Annals of Bogorensis* 1: 101-157.
- Rydin H., Jeglum J. (2006): *The Biology of Peatlands (Biology of Habitats)*. Oxford University Press, Oxford, pp. 350.
- Sadler J. (1840): *Flora Comitatus Pestinensis*. Ed. II. Budapest.
- Schlechter R. (1928): *Monographie und Iconographie der Orchideen Europas und des Mittelmeergebietes I*. Dahlem bei Berlin, pp. 304.
- Schulze M. (1894): *Die Orchidaceen Deutschlands, Deutsch-Oesterreich und der Schweiz*. E. Köhlers Verlag. pp. 118.
- Selosse M. A., Bauer R., Moyersoen B. (2002): Basal hymenomycetes belonging to the Sebacinaceae are ectomycorrhizal on temperate deciduous trees. *New Phytologist* 155: 183-195.
- Selosse M. A., Faccio A., Scappaticci G., Bonfante P. (2004): Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. *Microbial Ecology* 47: 416-426.
- Seregélyes T., Csomós S. Á. (1990): Természetvédelmi célú botanikai feltáró kutatások a Dabasi Turjános TT területén. OKTH-pályázat összefoglaló jelentés, kézirat.
- Shefferson R. P., Weiss M., Kull T., Taylor D. L. (2005): High specificity generally characterizes mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. *Molecular Ecology* 14: 613-626.

- Simonkai L. (1904): Pótlék Budapest és vidéke növényzetének ismertetéséhez. Magyar Botanikai Lapok 3: 79-87.
- Smith S. E., Read D. J. (2008): Mycorrhizal symbiosis, Ed 3. Academic Press, London, pp. 787.
- Stark C., Babik W., Durka W. (2009): Fungi from the roots of the common terrestrial orchid *Gymnadenia conopsea*. Mycological Research 113: 952-959.
- Sulyok J. (1999): *Epipactis palustris* (Mill.) Cr. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 303.
- Sulyok J., Ilonczai Z. (2002): Lápok. Nemzeti Ökológiai Hálózat 3. Környezetvédelmi Minisztérium Természetvédelmi Hivatala, Budapest, pp. 30.
- Takács A. A. (1999): *Liparis* project. Progress report 1998-1999. Budapest, kézirat, pp. 21-22.
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. (2007): MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 24: 1596-1599.
- Taylor D. L., Bruns T. D. (1997): Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 94: 4510-4515.
- Taylor D. L., Bruns T. D., Szaro T. M., Hodges S. A. (2003): Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a nonphotosynthetic desert orchid. American Journal of Botany 90: 1168-1179.
- Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positionspecific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research 22: 4673-4680.
- Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S.M., Webb D. A. (1980): Flora Europaea Vol. 5. Cambridge University Press, Cambridge.
- Vakhrameeva M. G., Tatarenko I. V., Varlygina T. I., Torosyan G. K., Zagulskii M. N. (2008): Orchids of Russia and Adjacent Countries (within the borders of the former USSR). A. R. G. Gantner Verlag K. G. Ruggell, Liechtenstein. pp. 690.
- Valentin B., Toussaint B., Duhamel F., Valet J. M. (2010): Plan national d'actions en faveur du *Liparis* de Loesel. Conservatoire botanique national de Bailleul. Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer, pp. 154.
- Vasuta G. (2009): A hagymaburok (*Liparis loeselii* (L.) Rich.) felfedezése a devecseri Széki-erdőben. Kitaibelia 14: 123.

- Vértényi G., Bratek Z. (1996): Talajlakó orchideák mikorrhizaképző gombáinak izolálása és annak nehézségei. Mikológiai Közlemények, Clusiana 35: 31-36.
- Vilgalys R. (1998): Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA. Vilgalys lab, Duke University, USA <http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm>
- Vojtkó A. (1999a): *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 313.
- Vojtkó A. (1999b): *Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br. ex Ait. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 319.
- Vojtkó A. (1999c): *Ophrys apifera* Huds. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 305.
- Vojtkó A. (1999d): *Ophrys holoserica* (Burm f.) Greuter. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 305.
- Vojtkó A. (1999e): *Ophrys insectifera* L. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 303.
- Vojtkó A. (1999f): *Ophrys scolopax* Cavan. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 305.
- Vojtkó A. (1999g): *Ophrys sphegodes* Mill. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 305.
- Vojtkó A. (1999h): *Orchis laxiflora* Lam. subsp. *palustris* (Jacq.) Bonnier et Layers. In: Farkas S. (szerk.): Magyarország védett növényei. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 307.
- Warcup J. H. (1971): Specificity of mycorrhizal association in some Australian terrestrial orchids. New Phytologist 70: 41-46.
- Warcup J. H. (1981): The mycorrhizal relationships of Australian orchids. New Phytologist 87: 371-381.
- Warcup J. H., Talbot P. H. B. (1967): Perfect states of *Rhizoctonias* associated with orchids. New Phytologist 66: 631-641.
- Warcup J. H., Talbot P. H. B. (1971): Perfect states of *Rhizoctonias* associated with orchids. II. New Phytologist 70: 35-40.
- Warcup J. H., Talbot P. H. B. (1980): Perfect states of *Rhizoctonias* associated with orchids. III. New Phytologist 86: 267-272.
- Wheeler B. D., Lambley P. W., Geeson J. (1998): *Liparis loeselii* (L.) Rich. In eastern England: constraints on distribution and population development. Botanical Journal of Linnean Society 126: 141-158.

- White T. J., Bruns T. D., Lee S., Taylor J. W. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. (szerk.): PCR protocols – A guide to methods and applications., Academic Press, London, pp. 315-322.
- Williamson B., Hadley G. (1970): Penetration and infection of orchid protocorms by *Thanatephorus cucumis* and other *Rhizoctonia* isolates. Phytopathology 60: 1092-1096.
- Ziegenspeck H. (1936): Orchidaceae. In: Kirchner von O., Loew E., Schröter C. (szerk.): Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas. Spezielle Ökologie der Blütenpflanzen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Band 1. Abt. 4. Verlagsbuchhandlung Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 840.
- Zimmer K., Meyer C., Gebauer G. (2008): The ectomycorrhizal specialist orchid *Corallorhiza trifida* is a partial myco-heterotroph. New Phytologist 178: 395-400.
- Zöld-Balogh Á., Dima B., Albert L., Babos M., Balogh M., Bratek Z. (2009): Floating island macromycetes from the Carpatho-Pannonian Region in Europe. Sydowia 61: 149-176.
- Zöld-Balogh Á., Parádi I., Bratek Z. (2002): Az őrségi Fekete-tó úszólápi növényeinek mikorrhiza-kapcsolatai. Kanitzia 10: 217-224.

Egyéb források:

1996. évi LIII. törvény

23/2005. (VIII. 31.) KvVM rendelet